

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER UNSPEZIFISCHE,
KOMPLEMENTABHÄNGIGE REAKTIONEN
BEI DER HYPERAKUTEN XENOGENEN
ABSTOSSUNGSREAKTION
(HXAR)**

Ekkehard Pratschke

1976

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung
(Prof.Dr.Dr.h.c. W. Brendel)
an der Chirurgischen Klinik der Universität München
(Prof.Dr. G. Heberer)

UNTERSUCHUNGEN ÜBER UNSPEZIFISCHE, KOMPLEMENTABHÄNGIGE
REAKTIONEN BEI DER HYPERAKUTEN XENOGENEN ABSTOSSUNGSREAKTION
(HXAR)

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von
Ekkehard Pratschke
aus München

München 1975

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Ludwig Maximilians-Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.Dr.h.c. W. Brendel

Mitberichterstatter: Prof.Dr. M. Eder

Tag der mündlichen Prüfung: 15. Juni 1976



Verzeichnis

1	Einleitung	1
2	Verzeichnis der Werke	2
3	Verzeichnis der Werke	3
4	Verzeichnis der Werke	4
5	Verzeichnis der Werke	5
6	Verzeichnis der Werke	6
7	Verzeichnis der Werke	7
8	Verzeichnis der Werke	8
9	Verzeichnis der Werke	9
10	Verzeichnis der Werke	10
11	Verzeichnis der Werke	11
12	Verzeichnis der Werke	12
13	Verzeichnis der Werke	13
14	Verzeichnis der Werke	14
15	Verzeichnis der Werke	15
16	Verzeichnis der Werke	16
17	Verzeichnis der Werke	17
18	Verzeichnis der Werke	18
19	Verzeichnis der Werke	19
20	Verzeichnis der Werke	20
21	Verzeichnis der Werke	21
22	Verzeichnis der Werke	22
23	Verzeichnis der Werke	23
24	Verzeichnis der Werke	24
25	Verzeichnis der Werke	25
26	Verzeichnis der Werke	26
27	Verzeichnis der Werke	27
28	Verzeichnis der Werke	28
29	Verzeichnis der Werke	29
30	Verzeichnis der Werke	30
31	Verzeichnis der Werke	31
32	Verzeichnis der Werke	32
33	Verzeichnis der Werke	33
34	Verzeichnis der Werke	34
35	Verzeichnis der Werke	35
36	Verzeichnis der Werke	36
37	Verzeichnis der Werke	37
38	Verzeichnis der Werke	38
39	Verzeichnis der Werke	39
40	Verzeichnis der Werke	40
41	Verzeichnis der Werke	41
42	Verzeichnis der Werke	42
43	Verzeichnis der Werke	43
44	Verzeichnis der Werke	44
45	Verzeichnis der Werke	45
46	Verzeichnis der Werke	46
47	Verzeichnis der Werke	47
48	Verzeichnis der Werke	48
49	Verzeichnis der Werke	49
50	Verzeichnis der Werke	50
51	Verzeichnis der Werke	51
52	Verzeichnis der Werke	52
53	Verzeichnis der Werke	53
54	Verzeichnis der Werke	54
55	Verzeichnis der Werke	55
56	Verzeichnis der Werke	56
57	Verzeichnis der Werke	57
58	Verzeichnis der Werke	58
59	Verzeichnis der Werke	59
60	Verzeichnis der Werke	60
61	Verzeichnis der Werke	61
62	Verzeichnis der Werke	62
63	Verzeichnis der Werke	63
64	Verzeichnis der Werke	64
65	Verzeichnis der Werke	65
66	Verzeichnis der Werke	66
67	Verzeichnis der Werke	67
68	Verzeichnis der Werke	68
69	Verzeichnis der Werke	69
70	Verzeichnis der Werke	70
71	Verzeichnis der Werke	71
72	Verzeichnis der Werke	72
73	Verzeichnis der Werke	73
74	Verzeichnis der Werke	74
75	Verzeichnis der Werke	75
76	Verzeichnis der Werke	76
77	Verzeichnis der Werke	77
78	Verzeichnis der Werke	78
79	Verzeichnis der Werke	79
80	Verzeichnis der Werke	80
81	Verzeichnis der Werke	81
82	Verzeichnis der Werke	82
83	Verzeichnis der Werke	83
84	Verzeichnis der Werke	84
85	Verzeichnis der Werke	85
86	Verzeichnis der Werke	86
87	Verzeichnis der Werke	87
88	Verzeichnis der Werke	88
89	Verzeichnis der Werke	89
90	Verzeichnis der Werke	90
91	Verzeichnis der Werke	91
92	Verzeichnis der Werke	92
93	Verzeichnis der Werke	93
94	Verzeichnis der Werke	94
95	Verzeichnis der Werke	95
96	Verzeichnis der Werke	96
97	Verzeichnis der Werke	97
98	Verzeichnis der Werke	98
99	Verzeichnis der Werke	99
100	Verzeichnis der Werke	100

Meiner Mutter gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

1)	Einleitung	1
2)	Methodik	4
2.1)	Allgemeine Bemerkungen	4
2.2)	Perfusionssystem	4
2.2.1)	Kreislauf	4
2.2.2)	Rollerpumpe	6
2.2.3)	Oxygenator	6
2.3)	Versuchstiere	7
2.4)	Nephrektomie	7
2.5)	Perfusionsvorgang	7
2.6)	Perfusat	8
2.6.1)	Vorbereitung der Blutzellen des Empfängers	8
2.6.1.1)	Thrombozyten	10
2.6.1.2)	Leukozyten und Erythrozyten	10
2.6.2)	Herstellung der Empfängerseren	10
2.6.2.1)	Gewinnung und inaktivieren	10
2.6.2.2)	Absorption hämagglutinierender Antikörper gegen Rattenerythrozyten aus dem Hundeserum	11
2.6.2.3)	Absorption komplementbindender Antikörper gegen Rattennierenzellen aus dem Hundeserum	11
2.6.2.4)	Aktivieren des inaktiven Hundeserums mit aktivem Rattenserum	11
2.7)	Serologische Untersuchungen	12
2.7.1)	Nachweis hämagglutinierender Antikörper gegen Rattenerythrozyten im Hundeserum	12
2.7.2)	Nachweis komplementbindender Antikörper gegen Rattennierenzellen im Hundeserum	13
2.8.)	Histologische Untersuchungen.....	14
2.9)	Messungen	15
2.10)	Berechnungen	15
2.11)	Versuchsprogramm	16
3)	Ergebnisse	17
3.1)	Serologie	17
3.1.1)	Serologische Aktivität	17

3.1.2)	Immunelektrophorese	17
3.2)	Xenohämoperfusion	19
3.2.1)	Versuchsbedingungen	19
3.2.2)	Das Verhalten der Rattennieren bei Perfusion mit den verschiedenen Perfusaten	21
3.2.2.1)	Laufzeit	21
3.2.2.2)	Dauer der funktionellen Perfusion	21
3.2.2.3)	Nierengewicht	23
3.2.2.4)	Verhalten des Perfusionsvolumens	23
3.2.2.5)	Urinproduktion	32
3.2.2.6)	Differentialblutbilder der Leukozyten	34
3.3)	Pathologische Befunde der perfundierten Nieren...	36
3.3.1)	makroskopisch	36
3.3.2)	mikroskopisch	36
4)	Diskussion	46
4.1)	Diskussion der Methodik	47
4.1.1)	Perfusionsmodell und Perfusionstechnik	47
4.1.2)	Perfusat	50
4.1.3)	Reproduzierbarkeit der HXAR in vitro und Ab- stoßungskriterien am untersuchten Modell	56
4.2)	Diskussion der Ergebnisse	57
4.2.1)	Besprechung des zeitlichen Verlaufs des Perfusionsvolumens	57
4.2.2)	Verhalten des Nierengewichts	63
4.2.3)	Verhalten der Urinproduktion	64
4.2.4)	Korrelation zwischen dem zeitlichen Verlauf des Perfusionsvolumens und den pathologischen Befun- den der perfundierten Rattennieren	65
4.3)	Der Mechanismus der HXAR unter besonderer Berücksichtigung des Komplementsystems	67
4.4)	Möglichkeiten zur Verlängerung der Überlebens- zeiten xenogener Organtransplantate im entfernt stammesverwandten Spender-Empfänger-System	71
5)	Zusammenfassung	74
6)	Literatur	75

Für die folgenden Kapitel werden folgende Abkürzungen eingeführt:

HXAR:	<u>h</u> yperakute <u>x</u> enogene <u>A</u> bstoßungs <u>r</u> ekation
HV:	<u>H</u> unde <u>v</u> ollblut
RV:	<u>R</u> atten <u>v</u> ollblut
iHS:	<u>i</u> naktives <u>H</u> unde <u>s</u> erum (56°C)/30min)
aRS:	<u>a</u> ktives <u>R</u> attens <u>e</u> rum
iRS:	<u>i</u> naktives <u>R</u> attens <u>e</u> rum
abs.HS g.RE:	<u>a</u> bsorbiertes <u>H</u> unde <u>s</u> erum <u>g</u> egen <u>R</u> attene <u>r</u> ythrozyten
abs.Hs g.RN:	<u>a</u> bsorbiertes <u>H</u> unde <u>s</u> erum <u>g</u> egen <u>R</u> attenn <u>i</u> erenzellen
"abs.RS":	RS das mit RE und RN inkubiert war (Vorgang wie bei der Absorption des HS)
HZ:	<u>H</u> unde <u>z</u> ellen (Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten)

1) EINLEITUNG

Das wissenschaftliche Spektrum der Transplantation von Zellen und Geweben umfaßt heute neben der Immunologie auch Biochemie, Genetik, Tumorforschung, Embryologie und Zytologie. Ihr klinisches Ziel ist der biologisch vollwertige Ersatz menschlicher Organe (23).

Es bedurfte großer wissenschaftlicher Anstrengungen - vornehmlich auf dem Gebiet der Immunologie -, um heute in bestimmten Fällen Organe erfolgreich am Menschen transplantieren zu können. Wissenschaftliche Berichte über erste Versuche von Transplantationen gehen bis zum Beginn des 20. Jahrhunderts zurück. Nach Standardisierung der Gefäßnahttechnik (16) erfolgten erste, operativ erfolgreiche Nierentransplantationen durch ULLMANN (106), CARELL und GUTHRIE. SCHÖNE prägte 1912 den Begriff der Transplantationsimmunität ("nur autotransplantierte Nieren haben Dauererfolge"). MURPHY fand 1924 einen Zusammenhang zwischen Verwerfung des Transplantats und den lymphoiden Zellen des Empfängers. 1936 erfolgte die erste, jedoch erfolglose Leichennierentransplantation am Menschen durch VORONOV. Exakte Untersuchungen über die Ursachen der Transplantationsabstoßung wurden damals noch nicht angestellt.

So forderten erst die Verbrennungsoffer des zweiten Weltkriegs eine systematische Untersuchung der Hauttransplantation. Der Zoologe MEDAWAR kam dieser klinischen Forderung in den Jahren 1944-1946 nach (69, 70). Anhand der unterschiedlichen Ergebnisse der Auto-, Allo- und Xenotransplantation am Modell der Hauttransplantation bei Kaninchen demonstrierte seine Oxford School die Phänomene der Transplantationsimmunologie zum ersten Mal im Detail. Die daraufhin folgende Suche nach Immunsuppressiva und deren Anwendung kombiniert mit einer Ganzkörperbestrahlung des Empfängers brachten in den fünfziger Jahren erstaunliche Erfolge bei Nierenallotransplantationen. Infolge Fehlens geeigneter und ausreichender humaner Spenderorgane wandte sich das Interesse sehr bald der Xenotransplantation zu, d.h. der Transplantation zwischen Individuen verschiedener Species. Durch REEMTSMA et al. (86, 87, 88) und STARZL et al. 1964 (102, 103) fand die Xenotransplantation Eingang in die Klinik. Mit Schimpansennieren bzw.

Baboonnieren überlebten Menschen bis zu 6 Monaten.

Die Heftigkeit der Abstoßung des Transplantats wird heute allgemein mit dem genetischen Unterschied zwischen Empfänger und Spender in Korrelation gebracht. Autotransplantationen der Haut werden heute ohne Schwierigkeiten durchgeführt. Für die Verwerfung allogener und xenogener Transplantate im genetisch nahe verwandten Spender-Empfängersystem (z.B. Fuchs/Hund) wird die zelluläre Immunität des Empfängers verantwortlich gemacht (32, 63, 80). Die hyperakut verlaufende Abstoßungsreaktion bei der Transplantation zwischen genetisch entfernt verwandten Species-Kombinationen dagegen wird primär durch präformierte Antikörper im Zusammenspiel mit Komplement und den Empfängerzellen, also in erster Linie humoral, verursacht (17, 61, 81). Daneben werden für die hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion (HXAR), die uns hier besonders interessiert, noch andere unspezifische Auslösemechanismen nicht-immunologischer Art diskutiert, wie z.B. die Unverträglichkeit der Enzymsysteme von Spender und Empfänger (15). Die Zeichen der HXAR sind rasches Sistieren der Organdurchblutung, Stauung, Oedeme, Hämorrhagien, sowie massive, histologisch nachweisbare Endothelläsionen. Der Nachweis der Beteiligung der oben genannten Faktoren an der HXAR ist in-vivo nicht oder nur sehr schwierig zu erbringen. Zu diesem Zweck wurde ein In-vitro-Perfusions-system entwickelt, mit dem die HXAR in ihrer vollen Symptomatik reproduziert werden kann. Als xenogenes Spender-Empfänger-System wurde die Kombination Ratte-Hund verwendet. Die Spendernieren (Rattennieren) werden mit Empfängerblut (Hundeblut) in diesem Perfusionsmodell perfundiert. In früheren Versuchen konnte die Reproduzierbarkeit der HXAR mit diesem Modell bewiesen werden (55), und die Beteiligung der verschiedenen Serumfraktionen (94) sowie der peripheren Blutzellen (2) bei der HXAR an diesem Modell untersucht werden.

In dieser Arbeit sollte die Rolle der präformierten Antikörper bei der HXAR unter besonderer Berücksichtigung des Komplementsystems am gleichen Modell geprüft werden. Dazu wurde im Prinzip folgender experimenteller Ansatz gewählt: Die Spendernieren werden mit 1) präformierten antikörperfreien 2) dekomplementierten sowie 3) mit Empfängerseren, die weder präformierte Antikörper

noch aktives Komplement enthalten, perfundiert. Wiederauffinden der Abstoßungsaktivität in einem dieser Perfusate gibt Hinweise, ob neben der spezifischen, immunologischen Antigen-Antikörper-Reaktion eine weitere Reaktion nichtimmunologischer Art an der HXAR beteiligt ist.

2) METHODIK

2.1) Allgemeine Bemerkungen:

Die vorliegenden Versuche wurden in der Zeit von Oktober 1973 bis Juli 1974 durchgeführt. Es wurde die von W. LAND und S.v. LIEBE (48) entwickelte Methodik verwendet. Gegenüber diesen Versuchen wurden technische Verbesserungen an der Perfusionspumpe und am Oxygenator vorgenommen.

2.2) Perfusionssystem

Das verwendete Perfusionssystem besteht aus einer Rollerpumpe, einer Perfusionskammer (= venöses Reservoir) und einem Kapillarioxygenator (Abb. 1).

Es wurde eine nach MENDLER, WEISSHAAR und BRENDL (71) angegebene Versuchsanordnung zur Ganzkörperperfusion von Ratten modifiziert.

2.2.1) Kreislauf:

Die Art. renalis der exzidierten Rattenniere wird auf einer feststehenden Kanüle (No.1) ligiert, sodaß das Organ an dem Gefäß frei in einer trichterförmigen Perfusionskammer hängt, in der sich das venöse Blut aus der breit eröffneten V.renalis sammelt. Das isolierte Organ schwimmt vollständig im Venenblut. Die Kammer wird innerhalb einer doppelten Wandung mit Heizwasser durchströmt. Der Gasaustausch erfolgt gegen reinen O_2 durch die Kapillarwände. Aus dem Oxygenator wird Blut von einer okklusiven Rollerpumpe abgesaugt. Unmittelbar vor der Art.renalis befindet sich ein nach dem Gegenstromprinzip arbeitender Wärmeaustauscher. In einem Heizwasserkreislauf sind Wärmeaustauscher und Perfusionskammer hintereinander in Serie geschaltet. Die Temperatur des Heizwassers wird durch einen Thermostat geregelt. Über einen im venösen Reservoir befindlichen Thermofühler kann die eingestellte Temperatur kontrolliert werden. Auf diese Weise kann die Temperatur im Umgebungsmilieu des perfundierten Organs (= venöses Reservoir) und die des Perfusats auf $37 \pm 0,5^\circ\text{Celsius}$ gehalten werden. Der Perfusionsdruck wird seiteständig an der arteriellen Kanüle über ein Statham Element*) gemessen. Durch Silikon-Kautschuk-Schläu-

*) Statham Laboratories Inc. Hato Wey/ Puerto Rico

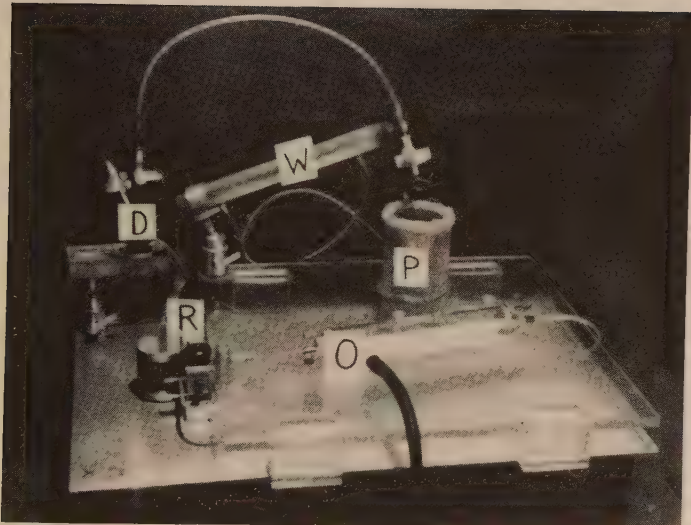


Abb. 1: Perfusionssystem: R = Rollerpumpe, P = Perfusionskammer, O = Oxygenator, W = Wärmeaustauscher, D = Druckmessung

che (10) sind die Kreislaufelemente hintereinander geschlossen. Das Perfusionssystem hat eine Füllkapazität von 33 ml Perfusat.

2.2.2) Rollerpumpe

Sie besitzt fünf gleitgelagerte Walzen, die einen Schlauch auspressen. Die entstehende Druckamplitude beträgt 14 mm Hg. Die Achse der Pumpe läuft in zwei Kugellagern. Der Antrieb erfolgt durch einen 220-Volt-Wechselstrommotor. Durch eine geeignete Widerstandsschaltung kann die Umdrehungszahl von 0-80 Umdrehungen/min auch in unteren Drehzahlbereichen stufenlos reguliert werden. Das entspricht bei einem Hub von 0,09 ml/Umdrehung einem Perfusionsvolumenstrom von 0 - 7,2 ml/min. Um die Pumpe okklusiv zu stellen, wird ein Steigrohr, das nach oben in ein Reservoir mündet, an ein Ende des Pumpenschlauches angeschlossen. Durch eine Spindel kann der Pumpenbacken mit kontinuierlich steigerbarem Druck gegen den Schlauch gepreßt werden, bis keine Flüssigkeit mehr aus dem freien Schlauchende strömt. So kann bei einer Steigrohrhöhe von zwei Meter die Pumpe auf 0,2 kp/cm² okklusiv gestellt werden.

2.2.3) Oxygenator

Der Kapillaroxygenator ist eine Weiterentwicklung des von MARX und BRENDEL angegebenen Typs (64, 65). Er besteht aus einem Bündel von 37 Silikon-Kautschuk-Schläuchen^{*)} (0,7 mm Ø, 0,1 mm Wandstärke, 150 mm Länge), das an beiden Enden in einem Metallraster vergossen wurde^{**)}. Ein- und Ausfluß sind mit einer verschraubbaren Plexiglaskuppel verschlossen, die in ihrem Scheitel eine konische Bohrung für die Schlauchanschlüsse besitzt. Das vergossene Bündel wurde derart in eine Hülse aus Plexiglas gehängt, daß die Kapillaren unter leichter Spannung stehen. Aus einem den Kapillaren parallel angeordneten Rohr mit 15 Bohrungen wird das Kapillarbündel senkrecht zur Verlaufsrichtung mit reinem O₂ (1 l/min) angeblasen.

^{*)} Silikon-Kautschuk-Schläuche, Detakta Isolier- und Meßtechnik Hamburg 39

^{**)} Silikon-Kautschuk-Kleber SK41, Wacker GmbH, München

2.3) Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden koloniegezüchtete, männliche Sprague-Dawley-Ratten von ca. 250g Körpergewicht verwendet^{*)}. An Futter erhielten die Tiere Fertigfutter (Altromin-R), sowie Wasser ad libitum. Eine Stunde vor Beginn der Operation wurden die Spender-ratten in einer Ätherkurznarkose^{**)} mit 10 ml 0,45%iger NaCl-Lösung belastet. Die Flüssigkeit wurde dem Tier über eine Magensonde verabreicht.

Hundeblut zur Hämoperfusion von Rattennieren wurde mischrassigen Tieren beiderlei Geschlechts mit einem Gewicht von 20 - 30 kg entnommen. Die Versuche waren so angelegt, daß für eine Versuchsgruppe immer derselbe Hund Blut spendete. Der jeweilige Spenderhund wurde während der Dauer der Versuche in einem Zwinger des Instituts gehalten. An Nahrung wurden ihm gekochte Reisfleischgerichte und Wasser ad libitum verfüttert.

2.4) Nephrektomie

Die Spendertiere wurden mit Chloralhydrat (360 mg/kg KG) anaesthetisiert und die Bauchhöhle durch einen Medianschnitt eröffnet. Der linke Ureter wurde freipräpariert, durch eine distale Unterbindung gestaut und nach Inzision mit einem Polyäthylenkatheter^{***)} (Intramedic PE 10) kanüliert. Die linke Niere wurde freipräpariert, der Gefäßstiel dargestellt, das Organ unter Erhaltung eines Aortenpatiches exzidiert und in das Perfusionssystem gebracht. Kurz vor Exzision wurden 100 ELiquemin^{****)}, gelöst in 1 ml Ringerlösung, zur Heparinisierung in die Aorta injiziert.

2.5) Perfusionsvorgang

Die in-vitro-Perfusion isolierter Nieren wurde im allgemeinen 3 - 5 min nach Abklemmen der Aorta des Spendertieres eingeleitet. Dabei wurden 3 Phasen der anlaufenden Perfusion unterschieden:

a) Vorperfusion der Niere mit der im System vorgegebenen Ringerlösung unter einem Perfusionsdruck von 40 - 60 mm Hg, zum Auswaschen

^{*)} Tierzucht Bäumler, Wolfratshausen

^{**) Äther zur Narkose, Farbwerke Hoechst AG, Frankfurt/Main}

^{***)} Intramedic Polyethylene Tubing, Clay-Adams, Inc. New York

^{****)} Liquemin 5000[®]

von restlichem Blut im Spenderorgan bis zum Auftreten einer makroskopischen, blaßweißen bis hellbraunen Färbung der Nierenoberfläche.

b) Stufenweise Steigerung des Perfusionsdrucks bis 100 - 110 mm Hg. Nieren, bei denen nicht bis zum Ende der zweiten Phase nach 15 min ein Perfusionsvolumen von mindestens 3,0 ml/g x min erreicht werden konnte, wurden aus dem Versuch genommen.

c) Bluteintritt in das Organ (= Hämoperfusion = Hauptperfusion). Vorsichtige Regulation der Drehzahl der Pumpe, sodaß ein Druck von 110 mm Hg nicht überschritten wurde. Auftretende Druckanstiege über 110 mm Hg wurden im weiteren Verlauf der Perfusion durch Reduzierung des Perfusionsvolumenstroms (= Verminderung der Pumpendrehzahl) ausgeglichen. Die Organperfusion wurde abgebrochen, wenn bei konstantem Druck von 110 mm Hg das Perfusionsvolumen unter 0,3 ml/g x min absank, bzw. bei ausreichendem Perfusionsvolumen nach 60-minütiger Beobachtungszeit.

2.6) Perfusat

Das Ausgangsperfusat bildete heparinisiertes Hundeblut (100 E Liquemin/10 ml Perfusat), das den Hunden unmittelbar vor dem Versuch aus den Brachialvenen der Vorderpfoten abgenommen wurde. Gegenüber früheren Versuchen von v.LIEBE, SCHILLING, ALDENHOFF und CORRELL wurde das Blut zur Perfusion nicht mehr diluiert. Zudem wurde der Kreislauf zur Hauptperfusion erst geschlossen, wenn der erste Tropfen Blut aus der V.renalis tropfte, und das venöse Reservoir zuvor fast vollständig von der Ringerlösung entleert war. Der pH-Wert des Perfusates wurde auf pH 7,3 - 7,4 eingestellt. In den folgenden Versuchen wurde die Zusammensetzung der Zellen und des Serums in xenogenen Perfusat variiert. Das Vorgehen bei der Präparation der verschiedenen Perfusate ist schematisch in Abb. 2 dargestellt.

2.6.1) Vorbereitung der Blutzellen des Empfängers

Um den bei der Präparation der Blutzellen auftretenden Verlust an Zellmaterial auszugleichen, wurde von einem Erfahrungswert von 36 ml Blut ausgegangen. Anschließende Zellzählungen bestätigten diesen Wert. Diese 36 ml Blut wurden nach Punktion einer Brachialvene in 6 ml EDTA aufgezogen.

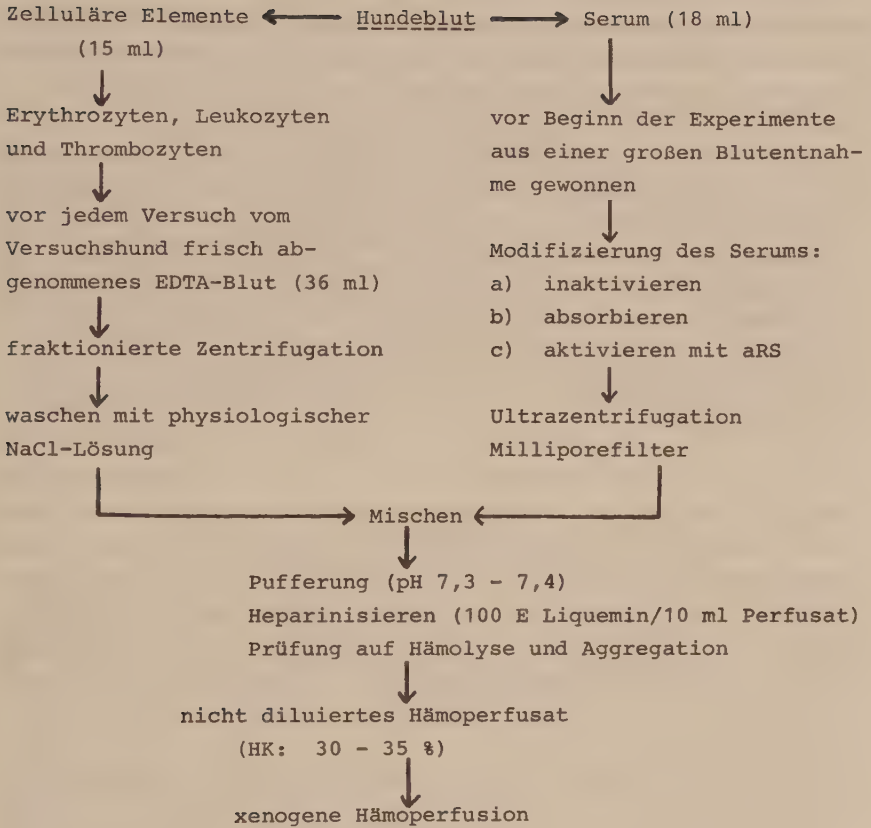


Abb. 2: Schematische Darstellung der Arbeitsgänge bei der Präparation der verschiedenen xenogenen Hämoperfusate: links zelluläre Elemente, rechts Seren

2.6.1.1) Thrombozyten:

Jeder Arbeitsgang wurde in silikonisierten Röhrchen durchgeführt. 36 ml EDTA-Hundeblut wurden mit 6 ml Dextran^{*)} und 33 ml physiologischer, gepufferter NaCl-Lösung versetzt und bei 1400 U/min über 20 min in drei 25 ml-Röhrchen zentrifugiert. Der erhaltene Überstand wird bis auf 1 ml über der Leukozytenzone abgehoben, in drei weiteren Röhrchen auf 25 ml mit physiologischer NaCl-Lösung aufgefüllt und 20 min bei 1600 U/min zentrifugiert. Der Überstand wird abgesaugt, der Rückstand in je 1 ml physiologischer NaCl-Lösung resuspendiert, wieder auf 25 ml aufgefüllt und nochmals bei 1600 U/min zentrifugiert. Nach Absaugen des Überstands wird der Rückstand in einigen Tropfen physiologischer NaCl-Lösung unter vorsichtigem Schütteln resuspendiert. Danach folgte die Prüfung auf Agglutination.

2.6.1.2) Leuko- und Erythrozyten:

Der Rückstand aus den Röhrchen des erstmals zentrifugierten EDTA-Blutes (siehe Thrombozytengewinnung) wird durch Zugabe von physiologischer NaCl-Lösung auf 25 ml aufgefüllt und vorsichtig aufgeschüttelt. Nach zweimaligem Waschen mit physiologischer NaCl-Lösung bei 1600 U/min über jeweils 15 min wurden aus dem Rückstand, bestehend aus oberer Leukozytenzone und unterer Erythrozytenzone, Leukozyten und Erythrozyten entnommen und auf Agglutination geprüft.

15 ml der Zellen wurden mit 18 ml behandeltem Serum zusammengesüttet und gezählt. Der Durchschnittswert der Erythrozyten lag im Hämoperfusat bei $3,6 \times 10^6/\text{mm}^3$, für Leukozyten bei $6500/\text{mm}^3$, für Thrombozyten bei $70\,000/\text{mm}^3$. Ferner wurde das Perfusat nach Zugabe des Serums zum Zellgemisch auf Agglutination und Hämolyse geprüft.

2.6.2) Herstellung der Seren

2.6.2.1) Gewinnung und inaktivieren:

In einer Nembutal-Narkose^{**)} wurde Hundeblut durch Entbluten aus der Art.femoralis eines Hundes gewonnen. Durch Zentrifugieren des geronnenen Blutes wurde das Hundeserum als Überstand erhalten. Die-

^{*)} Dextran MG 250000, 3%ig in physiologischer NaCl-Lösung

^{**)} Nembutal^R, Deutsche Abbot GmbH, Ingelheim/Rhein

ser Serumpool wurde 30 min im 56°C warmen Wasserbad inaktiviert, d.h. das Komplementsystem des Serums konnte dadurch nicht mehr aktiviert werden.

2.6.2.2) Absorption hämagglutinierender Antikörper gegen Rattenerythrozyten aus dem Hundeserum:

Als Antigen wurden Rattenerythrozyten verwendet, die aus EDTA-Blut (1 Volumenanteil 5%ige EDTA-Lösung + 9 Volumenanteile Frischblut) durch dreimaliges Waschen über jeweils 10 min bei 2500 U/min gewonnen wurden. Die Rattenerythrozyten wurden mit dem zuvor hitzeinaktivierten Hundeserum im Verhältnis 1:1 zwei Stunden lang bei Zimmertemperatur inkubiert. Danach wurde das Gemisch 15 min bei 2800 U/min zentrifugiert, das Serum als Überstand gewonnen und auf Hämolyse geprüft. Außerdem wurde vor und nach Absorption die hämagglutinierenden Antikörper im Hundeserum gegen Rattenerythrozyten bestimmt.

2.6.2.3) Absorption komplementbindender, cytotoxischer Antikörper im Hundeserum gegen Rattennierenzellen:

FrISChe Rattennieren wurden mit der Schere zerkleinert und die Gewebestücke durch ein Drahtsieb gerieben. Zu 1 ml NaCl-Lösung wurde 1 ml dieser Rattennierenzellsuspension gegeben. Um für die Absorption eine Stabilisierung der Zellmembranen der Rattennierenzellen zu erreichen, wurde die Nierenzellsuspension zwei Stunden mit 2,5%iger Glutaraldehydlösung inkubiert (5, 24). Anschließend wurde die Glutaraldehydlösung durch dreimaliges Zentrifugieren bei 3000 U/min über jeweils 5 min mit physiologischer NaCl-Lösung aus der Nierenzellsuspension herausgewaschen. Diese wurde dann zwei Stunden lang mit dem inaktiven Hundeserum im 37°C warmen Wasserbadschüttler im Verhältnis 1:1 inkubiert. Danach wurde das Serum durch 10-minütiges Zentrifugieren bei 5000 U/min als Überstand gewonnen. Der Titer komplementbindender Antikörper gegen Rattennierenzellen wurde jeweils vor und nach der Absorption durch eine Komplementbindungsreaktion (KBR) bestimmt.

2.6.2.4) Aktivieren des inaktiven Hundeserums mit aktivem Ratteneserum:

Nach Entbluten von Ratten (Sprague-Dawley) wurde vor jedem Versuch durch Zentrifugieren des geronnenen Blutes frisches Ratteneserum

gewonnen. Nach Mischen von 10 ml inaktivem Hundeserum mit 8 ml aktivem Rattenserum wurde das Serumgemisch 30 min bei Zimmertemperatur inkubiert. Danach wurde es in der Ultrazentrifuge bei 33000 U/min über 30 min ultrazentrifugiert, um die Präzipitate als Produkte eventuell stattgefundenen Kreuzreaktionen zwischen Bestandteilen beider Seren zu entfernen.

Vor dem Mischen mit den Hundezellen wurde das Serum oder Serumgemisch vor jedem Versuch zur Sterilisation und Filtration durch einen Milliporefilter^{*)} gepreßt. Serum und Zellen wurden so zusammengegeben, daß ein Hämatokritwert von 30 - 35% erreicht wurde. Nach dem Mischen wurden dem Perfusat 100 E Liquemin/10 ml Perfusat zugesetzt; zudem wurde das Perfusat auf einen pH-Wert von 7,3 - 7,4 gepuffert. Dies geschah mit 8,4%iger NaHCO_3 -Lösung bzw. mit 0,1 n HCl. Das Perfusat wurde vor dem Versuch nochmals auf Hämolyse und Aggregation von Zellmaterial geprüft.

2.7) Serologische Untersuchungen

Die serologischen Untersuchungen wurden in Anlehnung an die Standardverfahren durchgeführt. Sie sind im Folgenden kurz erläutert:

2.7.1) Nachweis agglutinierender Antikörper im Hundeserum gegen Rattenzellen: Hämagglutinationstest:

Gewinnung von Testzellen: Als Antigen wurden Rattenerythrozyten verwendet, welche aus EDTA-Blut (1 Volumenanteil 5%ige EDTA-Lösung + 9 Volumenanteile Frischblut) gewonnen wurden. Zur Herstellung einer Erythrozytensuspension wurde EDTA-Blut zweimal gewaschen und 0,2 ml des Sediments mit 50 ml gepufferter physiologischer NaCl-Lösung auf eine Konzentration von 50 000 Erythrozyten / mm^3 verdünnt.

In allen Tests wurde inaktiviertes Hundeserum (30 min/56°C) verwendet. Das Serum wurde bei -9°C aufbewahrt. Vorgehen: In Röhrchenreihen wurden 0,1 ml physiologische NaCl-Lösung mit 0,1 ml Serum in einer geometrischen progredienten Verdünnungsreihe ange-setzt und in jedes Röhrchen 0,1 ml Zellsuspension zugefügt. Nach Schütteln wurde erst 90 min bei 37°C, dann 30 min bei 4°C inkubiert. Daraufhin wurden die Zellsuspensionen auf einen Objektträger getropft und mikroskopisch bei schwacher Vergrößerung auf Agglu-

^{*)} Milliporefilter 100 GWSP/02500, Millipore Corporation, Bedford, Massachusetts

tinate hin abgelesen.

2.7.2) Nachweis komplementbindender Antikörper gegen Rattennierenzellen im Hundeserum (KBR-Makrotest) (49)

Frische blutleere Rattennieren wurden mit der Schere zerkleinert. Die Gewebestückchen wurden dann durch ein Drahtsieb gerieben. 1 ml der Zellsuspension wurde in 10 ml Liebermeierpuffer (pH 7,2-7,4) homogenisiert und das Homogenat bei 5000 g 20 min zentrifugiert. Der Überstand wurde mit Liebermeierpuffer verdünnt. Endprotein-konzentration der Organhomogenatsuspension: 500 mg%.

Vorgang: 1. Semiquantitative Komplementtitration:

Zur Abschätzung der Komplementaktivität im Gewebesystem wurde eine Verdünnungsreihe eines Tropfens des zu untersuchenden Meerschweinchen-serums^{*}) (1:10, 1:20, ..., 1:50) in Liebermeierpuffer angesetzt. Zu jeder Verdünnung erfolgt die Zugabe von 0,6 ml sensibilisierter Hammelerythrozyten. Nach 40 min Inkubation bei 37°C wurde die aufgetretene Lyse qualitativ geprüft. Jede größte Verdünnung, die noch eine Hämolyse verursachte, wurde als minimale hämolysierende Dosis (WHD) standardisiert.

2. Semiquantitative Antigentitration:

Zur Abschätzung günstiger Antigenkonzentrationen im gewählten System wurde eine Verdünnungsreihe eines Tropfens der zu untersuchenden Organhomogenatsuspension (1:10, 1:20, ..., 1:50) in Liebermeierpuffer (jeweils ein Tropfen) angesetzt. Zu jeder Verdünnung erfolgte Zugabe von 1 Tropfen titriertem Meerschweinchenkomplement, sowie 0,6 ml sensibilisierter Hammelerythrozyten. Nach 40-minütiger Inkubation bei 37°C wurde die aufgetretene Lyse qualitativ festgestellt.

3. Sensibilisierung der Hammelerythrozyten:

Hammelerythrozyten aus frischem Citratblut wurden dreimal in physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und in Liebermeierpuffer suspendiert (2 ml Sediment in 35 ml Puffer). Nach Hinzufügen von 10 ml Aqua dest. zu 0,5 ml dieser Suspension erfolgte die photometrische Messung^{**}) der Lösung bei 546 nm. Die Konzentration der Zellsuspension wurde so eingestellt, daß Extinktionswerte zwischen

^{*}) Meerschweinchenkomplement der Fa. Hyland Travenol, München

^{**}) Photometer Eppendorf

0,56 und 0,58 erhalten wurden. Zu 20 ml Zellsuspension erfolgte Zugabe von 5 ml Ambozeptor (Hämolysingemisch)*) und 15 ml Liebermeierpuffer. Danach 40 min Inkubation bei 37°C. Die Aufbewahrung erfolgte bei +4°C im Kühlschrank. Vor Gebrauch wurde das Gemisch auf 240 ml mit Liebermeierpuffer verdünnt.

4. Hauptreaktion:

Im Röhrchentest wurden in allen Röhrchen der Reihe mit einer geeichten Tropfpipette ein Tropfen Serum einer mit Liebermeierpuffer geometrisch fallend angesetzten Verdünnungsreihe, ein Tropfen aus titrierte Organhomogenatsuspension angesetzt. Nach 90 min Inkubationszeit bei 37°C wurden 0,6 ml der sensibilisierten Hammelerythrozyten hinzugefügt. Nach Mischen und 30 min Inkubation bei 37°C erfolgt die Ablesung. Hämolysen: keine Komplementbindung; Nicht-hämolysen: Komplementbindung. Dabei ergibt das letzte Röhrchen vor der vollständigen Hämolysen den Titer.

5. Kontrollen:

Organhomogenat ohne Serum und Serum ohne Organhomogenat.

2.8) Histologische Untersuchungen

Zur histologischen Auswertung wurden die perfundierten Organe fixiert: ein Viertel eines Organs wurde in gepuffertem Formalin, ein weiteres Viertel in flüssigem Stickstoff und die restliche Hälfte in Acrylat-Fixiermittel fixiert.

Die Einbettung erfolgte in Paraffin und Methacrylat. Als Standardfärbungen wurden verwendet: HE, van Gieson, PAS, Ladewig-Fibrinfärbung (Paraffinschnitte); Giemsa, Gomorri-Versilberung (Methacrylat-Schnitte).

Folgende Unterscheidungen bezüglich einer stattgefundenen HXAR wurden gemacht:

- a) keine Abstoßungszeichen (Symbol -)
- b) fragliche Abstoßungszeichen: Thrombozytenaggregate, Granulozytenvermehrung, Fibrinmikrothromben, jedoch keine Veränderungen am Endothel (Symbol?)
- c) hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion (HXAR): Thrombozytenaggregate, Granulozytenvermehrung, Fibrinmikrothromben, Kernpyknoten und Läsionen und Nekrosen des Endothels (Symbol +).

*) Fa. Hyland Travenol, München

2.9) Messungen

a) Zeitmessungen:

Anoxiezeit: Zeitraum vom Abklemmen der Aorta der Spenderratte bis zum Eintritt der Ringerlösung in das Organ.

Ischämiezeit: Zeitraum zwischen Abklemmen der Aorta und Eintritt des Hämoperfusates in die Niere.

Perfusionszeit: Dauer der Hämoperfusion.

Fixationszeit: Dauer vom Perfusionsende bis zur abgeschlossenen Fixierung des Organs.

b) Während der Perfusion fortlaufende Registrierung des Perfusionsdruckes (Regulation auf arterielle Mittelwerte von 110 mm Hg), der über ein Statham-Element gemessen wurde, der Perfusionszeit und der Pumpendrehzahl auf einem Direktschreiber^{*)}.

c) Bestimmung des Feuchtgewichts der Niere vor der Perfusion und nach dem Perfusionsende mit der Feinwaage^{**)}.

d) Bestimmung des pH-Wertes des Perfusats vor Perfusionsbeginn und nach Perfusionsende.

e) Zählung der Leukozyten und Thrombozyten im Perfusat am Versuchsbeginn und am Versuchsende.

f) Bestimmung des Hämatokritwertes zu Beginn und am Ende des Versuchs.

g) Anlegen und Auszählen eines Differentialblutbildes der Leukozyten im Perfusat vor Perfusionsbeginn und am Perfusionsende.

h) Messung der pro 15 min ausgeschiedenen Urinmenge und des Urinfaktors, einer Messung der Urinmenge in 10-minütigen Abständen über jeweils zwei Minuten Dauer.

2.10) Berechnungen:

Die Nierendurchblutung pro Gramm Nierengewicht und Minute, errechnet sich aus n = Umdrehungszahl der Pumpe/Minute, bei einem Schlagvolumen von 0,09 ml pro Umdrehung durch das Gewicht der linken Rattenniere vor dem Perfusionsbeginn:

$$\text{Nierendurchblutung} = \frac{n \times 0,09}{\text{Gewicht d. li. Niere}} \quad \frac{\text{ml}}{\text{g} \times \text{min}}$$

^{*)} Direktschreiber Hellige MR 76, American Optic Comp.

^{**)} Feine Federwaage, Original Rebüre (Höchstbelastung 5 kg)

Gegenüber früheren Versuchen (2, 55, 94) konnte ohne merkliche Verlängerung der Anoxiezeit das Gewicht der linken Niere anstelle der rechten bestimmt werden.

2.11) Versuchsprogramm:

1. Kontrollen: Perfusion mit Rattenvollblut (n = 5), mit Hundevollblut (n = 5) und mit Hundeblut von Neugeborenen (n = 8) (RV, HV, Neugeb. HV).

2. Perfusion der Rattennieren zur Bestimmung der Rolle des Komplementsystems bei der HXAR am vorliegenden Modell:

a) Perfusion mit Hundezellen (Erythrozyten, Leukozyten und Thrombozyten) und hitzeinaktiviertem Hundeserum (n = 5)

(HZ + iHS)

b) Perfusion mit Hundezellen, inaktivem Hundeserum und aktivem Rattenserum (n = 5) (HZ + iHS + aRS)

c) Perfusion mit Hundezellen, inaktivem Hundeserum und inaktivem Rattenserum (n = 5) (HZ + iHS + iRS)

3. Perfusion der Rattennieren mit Perfusaten mit absorbierten Seren:

a) Hundezellen mit gegen Rattenergythrozyten absorbiertem Hundeserum und aktivem Rattenserum (n = 5)

(HZ + abs.HS g.RE + aRS)

b) Hundezellen + gegen eine Rattennierenzellsuspension absorbiertes Hundeserum + aktives Rattenserum (n = 5)

(HZ + abs.HS g.RN + aRS)

c) Hundezellen mit gegen Rattennierenzellen absorbiertem Hundeserum und inaktivem Rattenserum (n = 3)

(HZ + abs.HS g.RN + iRS)

d) Rattenvollblut mit Rattenserum, das wie HS bei der Absorption (gegen Rattenergythrozyten und Rattennierenzellen) behandelt wurde. (n = 3) (RV + "abs.RS")

e) Orientierende Einzelversuche:

Hundeerythrozyten + abs.HS g.RN + aRS

Hundezellen + Gelifundol + aRS

3) ERGEBNISSE

3.1) Serologie (siehe Tabelle 1):

3.1.1) Serologische Aktivität:

In Tabelle 1 sind die Titer präformierter Antikörper im jeweiligen Empfängerserum (= Hund) gegen den Organspender (= Ratte) zusammengestellt. Bei Perfusion der Rattennieren mit HV betrug der Titer hämagglutinierender Antikörper 1:128, der komplementbindender Antikörper 1:16. Der Ausgangstiter des Hundeserums vor entsprechender Modifizierung für die jeweilige Versuchsgruppe war für die Xenohämagglutinine 1:256, für die komplementbindenden Antikörper 1:4.

In jenem Serumpool, der gegen Rattenerthrozyten absorbiert worden war, konnten mit dem Hämagglutinationstest keine hämagglutinierenden Antikörper gegen Rattenerthrozyten mehr gefunden werden. Die komplementbindenden Antikörper blieben dabei unverändert. Im Serumpool, der gegen die Rattennierenzellsuspension absorbiert worden war, fanden sich keine komplementbindenden Antikörper mehr, der Titer an Xenohämagglutininen war von 1:256 auf 1:2 gefallen.

Im neugeborenen Hundevollblut wurde in einem von 8 Seren ein Hämagglutinationstiter (von 1:2) gemessen, Titer komplementbindender Antikörper gegen Rattennierenzellen waren dagegen mit der KBR nie nachzuweisen. Die neugeborenen Hunde waren beim Entbluten zwischen 6 und 9 Tage alt.

3.1.2) Immunelektrophorese:

Die Auswertung der durch die Immunelektrophorese mit einem polyvalenten Antihundeserum erhaltenen Präzipitationslinien erfolgte nach einem von P. GRABAR (29) gegebenen Schema zur immunelektrophoretischen Analyse von Hundeserum. Dabei wurde bei den neugeborenen Hunden im Gegensatz zu den erwachsenen Hunden ein Fehlen der gamma-Globulinfraktion in allen 8 Seren festgestellt.

Tabelle 1: Serologie: Titer präformierter Antikörper und Ergebnisse der Immunelektrophorese des Serums von HV, der Seren der zusammengesetzten Perfusate vor und nach Absorption und des Serums der einzelnen neugeborenen Hunde:

Perfusat	Hämagglutinationstiter gegen Rattenerythrozyten	KBR gegen die Rattennierenzellsuspension	immunelektrophoretischer Nachweis von gamma-Globulin
HV	1:128	1:16	+
Serum vor der Absorption (Ausgangsserum = iHS)	1:256	1:4	+
abs.HSg.RE	Ø	1:4	+
abs.HSg.RN	1:2	Ø	+
Neugeb.HV:			
Hund 1	Ø	Ø	Ø
Hund 2	1:2	Ø	Ø
Hund 3	Ø	Ø	Ø
Hund 4	Ø	Ø	Ø
Hund 5	Ø	Ø	Ø
Hund 6	Ø	Ø	Ø
Hund 7	Ø	Ø	Ø
Hund 8	Ø	Ø	Ø

3.2) Xenohämoperfusion

3.2.1) Versuchsbedingungen (siehe Tabelle 2):

Die hier zusammengefaßten Meßgrößen geben die jeweils höchsten bzw. niedrigsten von außen beeinflussbaren Mittelwerte der verschiedenen Versuchsgruppen an. Um vergleichbare Versuchsgruppen zu erhalten wurde angestrebt, die Werte für Anoxie, Ischämie, Hämatokrit und pH möglichst konstant zu halten.

Anoxiezeiten $3,7 \pm 0,7$ - $4,4 \pm 0,2$ min

Ischämiezeiten: $12,2 \pm 0,6$ - $14,6 \pm 0,2$ min

Bei schonender Operationstechnik sind diese Werte ein Maß für die Schädigung des Organs vor Versuchsbeginn, d.h. ein Maß für die Ausgangsbedingungen.

Da in den vorliegenden Versuchen nicht mehr diluiert wurde, schwankte der Hämatokrit-Wert besonders zwischen den Vollblutversuchsgruppen einerseits und den Versuchsgruppen mit zusammengesetzten Perfusaten andererseits, bei denen ein HK von 30 - 35% angestrebt wurde.

HK-Werte: a) Vollblutversuche (HV, RV, Neugeb.HV):

Versuchsbeginn: $36,0 \pm 0,8$ - $47,8 \pm 1,3$ %

Versuchsende: $36,0 \pm 0,8$ - $47,8 \pm 1,3$ %

b) Versuchsgruppen mit zusammengesetzten Perfusaten:

Versuchsbeginn: $32,0 \pm 0,6$ - $38,8 \pm 1,2$ %

Versuchsende: $31,0 \pm 0,6$ - $37,8 \pm 0,7$ %

Dabei fiel innerhalb einiger Versuchsgruppen ein HK-Abfall bis zu 1% zwischen Versuchsbeginn und Versuchsende auf. Die Flüssigkeitsverluste durch die Urinproduktion wurden im System durch gleiche Mengen Ringerlösung ersetzt. Eine Hämolyse zwischen Versuchsbeginn und Versuchsende wurde nicht beobachtet.

Das Perfusat wurde zu Beginn des jeweiligen Versuchs auf pH-Werte zwischen $7,32 \pm 0,02$ - $7,38 \pm 0,02$ eingestellt. Im Verlauf der Versuche erfolgte bis zum Versuchsende ein Abfall auf $7,30 \pm 0,0$ - $7,36 \pm 0,02$. Dabei lag die Differenz des pH-Wertes zwischen Versuchsbeginn und Versuchsende vor allem in jenen Kollektiven, die 1 Stunde perfundiert wurden, mit 0,02 - 0,08 am höchsten.

Perfusionsdruck: Ein Perfusionsdruck bei einem gleichbleibendem Mitteldruck von 110 mm Hg konnte eingehalten werden, wie die Messungen ergaben. Dies wurde durch die stufenlose Beschleunigung bzw. Reduktion der Pumpendrehzahl bei einem eventuell eintretenden Druckabfall bzw. Druckanstieg ermöglicht.

Tabelle 2: Zusammenstellung der Meßergebnisse der für die Versuchsbedingungen verantwortlichen Größen bei
Hämoperfusion der Rattennieren:
Anoxie, Ischämie, Hämatokrit und pH.

Perfusat	T _a	T _i	HK _a	HK _e	pH _a	pH _e
RV	3,8 ± 0,1	14,4 ± 0,6	38,2 ± 0,8	37,2 ± 0,8	7,38 ± 0,02	7,32 ± 0,02
HV	4,4 ± 0,2	14,5 ± 1,0	47,4 ± 1,3	47,4 ± 1,3	7,36 ± 0,02	7,36 ± 0,02
Neugeb.HV	4,4 ± 0,2	12,2 ± 0,6	36,0 ± 0,8	36,0 ± 0,8	7,33 ± 0,02	7,33 ± 0,02
HZ+iHS	4,1 ± 0,3	12,8 ± 0,8	38,8 ± 1,2	37,8 ± 0,7	7,38 ± 0,02	7,30 ± 0,00
HZ+iHS+aRS	4,1 ± 0,2	14,0 ± 0,6	33,2 ± 0,9	33,2 ± 0,9	7,36 ± 0,02	7,36 ± 0,02
HZ+iHS+iRS	4,3 ± 0,2	14,2 ± 0,4	33,0 ± 0,6	32,0 ± 0,6	7,33 ± 0,02	7,31 ± 0,01
HZ+HS abs.g.RE +aRS	3,9 ± 0,3	14,4 ± 0,4	32,0 ± 0,6	32,0 ± 0,6	7,34 ± 0,03	7,34 ± 0,03
HZ+HS abs.g.RN +aRS	4,5 ± 0,2	14,6 ± 0,2	33,6 ± 0,5	33,6 ± 0,5	7,32 ± 0,02	7,32 ± 0,02
HZ+HS abs.g.RN +iRS	3,7 ± 0,2	14,3 ± 0,7	32,0 ± 0,6	31,0 ± 0,6	7,37 ± 0,03	7,30 ± 0,00
RV+"abs.RS"	3,7 ± 0,2	13,3 ± 0,9	32,7 ± 0,7	31,7 ± 0,7	7,37 ± 0,03	7,35 ± 0,03

T_a = Anoxiezeit (min)

T_i = Ischämiezeit (min)

HK_a = Hämatokrit zu Versuchsbeginn (%)

HK_e = Hämatokrit am Versuchsende (%)

pH_a = pH zu Versuchsbeginn

pH_e = pH am Versuchsende

3.2.2) Verhalten der Nieren bei Perfusion mit den verschiedenen Perfusaten.

3.2.2.1) Laufzeit (siehe Tabelle 3):

Nach der für diese Versuche gegebenen Definition gilt ein Organ als abgestoßen, wenn bei konstant gehaltenem Perfusionsdruck eine minimale Durchblutung von $0,3 \text{ ml/g} \times \text{min}$ unterschritten wird. War dies nach 60 min nicht der Fall, so wurde der Versuch abgebrochen und als nicht hyperakut abgestoßen gewertet.

Bei Perfusion der Rattennieren mit RV lagen die Perfusionsvolumina in allen Einzelversuchen nach 60 min noch ausreichend hoch, ebenso bei Perfusion mit RV + "abs.RS", sowie mit Perfusaten mit hitzedekomplementierten Seren. Dagegen waren alle Versuche, deren Perfusate xenogene Vollseren oder inaktivierte, xenogene Seren + aRS enthielten, nach $11,4 \pm 1,6 - 16,2 \pm 1,8 \text{ min}$ beendet. Die Laufzeiten der Einzelversuche streuten dabei besonders bei Perfusion mit Neugeb.HV zwischen 6 und 30 min.

3.2.2.2) Dauer der funktionellen Perfusion (siehe Tabelle 3):

Die von A. SCHILLING eingeführte Größe der funktionellen Perfusion wurde übernommen. Bei einem Wert von $1,0 \text{ ml/g} \times \text{min}$ Nierendurchblutung ist die minimale nutritive O_2 -Versorgung der Rattenniere noch gewährleistet. Bei den allogenen Versuchen mit RV und RV + "abs. RS" wurde während der 60 minütigen Versuchsdauer die funktionelle Perfusion nicht unterschritten. Bei allen xenogenen Versuchen wurde die funktionelle Perfusion unterschritten und zwar nach $2,8 \pm 0,4 - 5,0 \pm 1,0 \text{ min}$. Während jedoch bei jenen xenogenen Perfusionen, deren Perfusate aktives Komplement enthielten, die Durchblutung weiter abfiel, wurde die funktionelle Perfusion in den Versuchen mit inaktivierten Seren wieder erreicht und bis zum Versuchsende nach 60 min nicht wieder unterschritten. Bei HZ + iHS wurde die funktionelle Perfusion nach $9,6 \pm 1,8 \text{ min}$ wieder überschritten, bei Perfusion mit HZ+iHS+iRS nach $20,4 \pm 4,0 \text{ min}$ und bei HZ+abs.HSg.RN+iRS nach $22,3 \pm 0,9 \text{ min}$.

Tabelle 3: Meßwerte der Laufzeit, der Dauer der funktionellen Perfusion, des Gewichts der perfundierten Niere vor und nach Perfusion und der prozentualen Gewichtszunahme.

Perfusat	T_L	T_F	G_O	G_e	G
RV	60 ± 0	$0-60 \pm 0$	$0,96$ $\pm 0,02$	$1,28$ $\pm 0,04$	$33,4 \pm 4,2$
HV	$11,6 \pm 2,1$	$0-3,0 \pm 0,3$	$1,02$ $\pm 0,07$	$1,26$ $\pm 0,08$	$23,6 \pm 2,8$
Neugeb.HV	$11,6 \pm 2,8$	$0-5,0 \pm 1,0$	$0,98$ $\pm 0,05$	$1,34$ $\pm 0,05$	$37,9 \pm 5,5$
HZ+iHS	60 ± 0	$0-4,4 \pm 0,7$ $u. 9,6 \pm 1,8-60$	$0,92$ $\pm 0,05$	$1,30$ $\pm 0,06$	$41,5 \pm 5,8$
HZ+iHS+aRS	$11,4 \pm 1,6$	$0-2,8 \pm 0,4$	$0,92$ $\pm 0,09$	$1,07$ $\pm 0,07$	$17,4 \pm 4,0$
HZ+iHS+iRS	60 ± 0	$0-4,0 \pm 0,2$ $u. 16,4 \pm 4,0-60$	$0,84$ $\pm 0,04$	$1,14$ $\pm 0,07$	$35,4 \pm 5,1$
HZ+abs.HSgRE +aRS	$16,2 \pm 1,7$	$0-3,2 \pm 0,2$	$0,82$ $\pm 0,02$	$0,94$ $\pm 0,02$	$14,7 \pm 2,6$
HZ+abs.HSgRN +aRS	$12,8 \pm 1,4$	$0-3,2 \pm 0,4$	$0,84$ $\pm 0,02$	$0,98$ $\pm 0,04$	$19,4 \pm 3,6$
HZ+abs.HSgRN +iRS	60 ± 0	$0-4,0 \pm 0$ $u. 22,4 \pm 0,9-60$	$0,73$ $\pm 0,03$	$0,95$ $\pm 0,08$	$28,8 \pm 4,8$
RV+"abs.RS"	60 ± 0	$0-60 \pm 0$	$0,90$ $\pm 0,10$	$1,10$ $\pm 0,10$	$22,7 \pm 2,3$

T_L = Laufzeit (min)

T_F = funktionelle Perfusion: von - bis (min)

G_O = Anfangsgewicht der Niere zu Perfusionsbeginn (g)

G_e = Gewicht der Niere nach Perfusionsende (g)

G = Gewichtszunahme (%)

3.2.2.3) Nierengewicht (siehe Tabelle 3)

Verglichen wurde das Gewicht der perfundierten Niere vor Perfusionsbeginn und nach dem Versuchsende. Die Gewichtszunahmen lagen zwischen $14,7 \pm 2,6$ und $41,5 \pm 5,8\%$. Dabei fiel auf, daß bei den über 60 min perfundierten Organen die Gewichtszunahmen ungleich größer waren, als bei den Organen, die weniger als 60 min perfundiert wurden. Eine Ausnahme bildete die Versuchsgruppe mit Neugeb. HV, bei der trotz einer Perfusionszeit von nur 11,6 min im Durchschnitt eine Gewichtszunahme von $37,9 \pm 5,5\%$ beobachtet wurde.

3.2.2.4) Verhalten des Perfusionsvolumens (siehe Tabelle 4 und Abb. 3, 4, 5, 6, 7)

a) Vollblutperfusionen:

Perfusion mit RV: Innerhalb der ersten 5 min sinkt das Perfusionsvolumen ($= V_p$) von $4,26 \pm 0,3$ auf $1,98 \pm 0,3$ ml/g x min, steigt dann bis zur 50. min auf einen Wert von $4,1 \pm 0,4$ ml/g x min, der bis zum Versuchsende nach 60 min in etwa konstant bleibt.

Perfusionen mit HV: von einem Ausgangsperfusionsvolumen von $3,96 \pm 0,4$ ml/g x min fällt die Nierendurchblutung nach 5 min auf $0,54 \pm 0,1$ ml/g x min und unterschreitet nach 11,6 min den zuvor festgesetzten Grenzwert der minimalen Durchblutung von $0,3$ ml/g x min.

Perfusion mit Neugeb.HV: Vom Maximum des V_p von $4,68 \pm 0,4$ ml/g x min zu Versuchsbeginn sinken die Werte nach 5 min auf $0,93 \pm 0,3$ ml/g x min. Nach 11,6 min durchschnittlich werden die Versuche wegen Absinkens von V_p unter $0,3$ ml/g x min abgebrochen.

b) Perfusion mit zusammengesetzten Perfusaten mit inaktiven und aktiven Seren:

Perfusion mit HZ+iHS: Nach einem Abfall von V_p von $4,42 \pm 0,4$ ml/g x min auf $0,72 \pm 0,1$ ml/g x min in den ersten 5 min der Perfusion wird nach zehn Minuten mit $1,02 \pm 0,1$ ml/g x min die funktionelle Perfusion wieder überschritten; von da an steigt V_p bis zur 40. min auf $2,56$ ml/g x min und bis zum Versuchsende nach 60 min nur noch geringfügig bis auf $2,72$ ml/g x min.

Tabelle 4: Zeitlicher Verlauf des Perfusionsvolumens (ml/g x min)
bei Perfusion mit den verschiedenen Perfusaten:

Perfusat	0 (min)	5	10	15	20	25	30
RV	4,26 ±0,3	1,98 ±0,3	2,46 ±0,4	2,82 ±0,3	3,18 ±0,2	3,32 ±0,3	3,46 ±0,3
HV	3,96 ±0,4	0,54 ±0,1	0,38 ±0,1	0,12	-	-	-
Neugeb.HV	4,68 ±0,4	0,93 ±0,3	0,23 ±0,1	0,17	-	-	-
HZ+iHS	4,42 ±0,4	0,72 ±0,1	1,02 ±0,1	1,46 ±0,2	1,86 ±0,3	2,32 ±0,5	2,42 ±0,5
HZ+iHS+aRS	3,76 ±0,1	0,46 ±0,1	0,20 ±0,1	-	-	-	-
HZ+iHS+iRS	4,24 ±0,1	0,54 ±0,1	0,56 ±0,1	0,86 ±0,3	1,24 ±0,5	1,72 ±0,5	1,92 ±0,4
HZ+abs.HSg.RE +aRS	4,06 ±0,1	0,42 ±0,0	0,36 ±0,0	0,34 ±0,1	0,11	-	-
HZ+abs.HSg.RN +aRS	4,16 ±0,2	0,42 ±0,0	0,32 ±0,0	0,13	-	-	-
HZ+abs.HSg.RN +aRS	3,66 ±0,1	0,73 ±0,0	0,60 ±0,1	0,60 ±0,1	0,73 ±0,0	1,20 ±0,1	2,27 ±0,3
RV+"abs.RS"	3,56 ±0,1	1,16 ±0,1	1,63 ±0,3	2,10 ±0,3	2,56 ±0,1	2,70 ±0,2	2,96 ±0,2

Fortsetzung Tabelle 4: Zeitlicher Verlauf des Perfusionsvolumens (ml/g x min) bei Perfusion mit den verschiedenen Perfusaten:

Perfusat	35 (min)	40	45	50	55	60
RV	3,70 $\pm 0,3$	3,70 $\pm 0,2$	3,92 $\pm 0,3$	4,10 $\pm 0,4$	4,08 $\pm 0,5$	4,12 $\pm 0,5$
HV	-	-	-	-	-	-
Neugeb.HV	-	-	-	-	-	-
HZ+iHS	2,50 $\pm 0,5$	2,56 $\pm 0,6$	2,62 $\pm 0,7$	2,76 $\pm 0,8$	2,72 $\pm 0,8$	2,72 $\pm 0,9$
HZ+iHS+aRS	-	-	-	-	-	-
HZ+iHS+iRS	2,08 $\pm 0,4$	2,40 $\pm 0,4$	2,52 0,5	2,44 $\pm 0,4$	2,46 $\pm 0,4$	2,58 $\pm 0,4$
HZ+abs.HSg.RE -aRS	-	-	-	-	-	-
HZ+abs.HSg.RN +aRS	-	-	-	-	-	-
HZ+abs.HSg.RN	2,73 $\pm 0,3$	3,03 $\pm 0,2$	3,23 $\pm 0,2$	3,43 $\pm 0,3$	3,43 $\pm 0,3$	3,50 $\pm 0,3$
RV+"abs.RS"	3,20 $\pm 0,3$	3,13 $\pm 0,3$	3,07 $\pm 0,3$	3,00 $\pm 0,4$	3,07 $\pm 0,3$	3,10 $\pm 0,4$

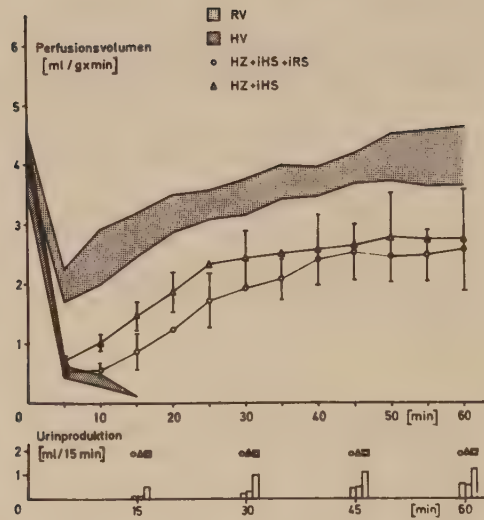


Abb. 3: Perfusionsvolumen und Urinproduktion bei hämoperfundierten Rattennieren bei Perfusion mit RV, HV, HZ+iHS+iRS und HZ+iHS.

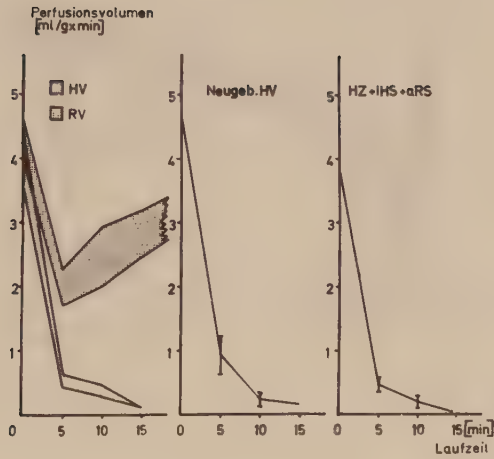


Abb. 4: Perfusionsvolumen bei xenogen hämoperfundenen Ratten-
nieren bei Perfusion mit Neugeb. HV und HZ+iHS+aRS, ver-
glichen mit allogener und xenogener Vollblutkontrolle.

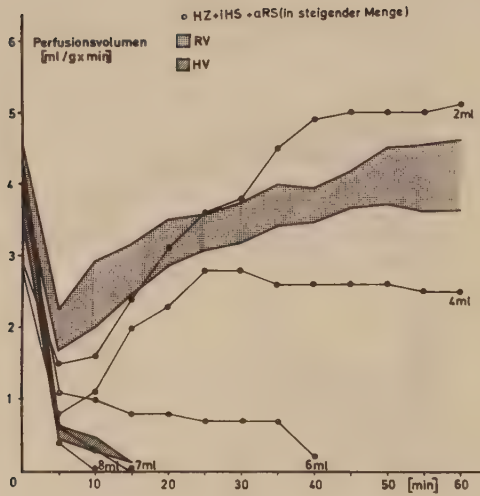


Abb. 5: Perfusionsvolumen bei Perfusion der Rattennieren mit Hundeblutzellen + inaktiviertem Hundeserum + aktivem Rattenserum in steigender Menge (2 ml, 4 ml, 6 ml, 7 ml, 8 ml).

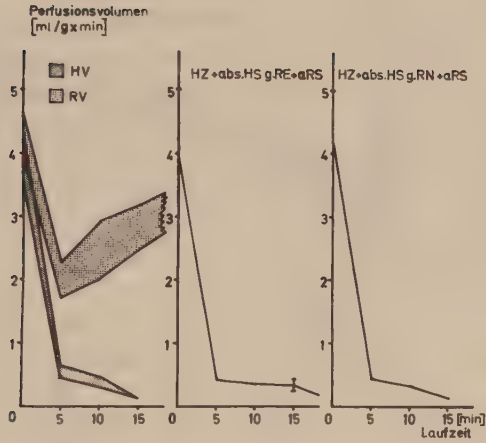


Abb. 6: Perfusionsvolumen bei xenogen hämoperfundenen Ratten-
nieren bei Perfusion mit HZ+abs.HSg.RE+aRS und
HZ+abs.HSg.RN+aRS, verglichen mit allogener und xeno-
gener Vollblutkontrolle.

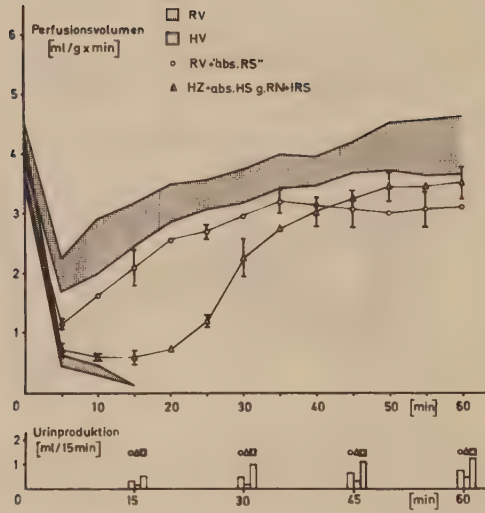


Abb. 7: Perfusionsvolumen und Urinproduktion bei hämoperfundierten Rattennieren bei Perfusion mit RV+"abs.RS" und HZ+abs.HSg.RN+iRS, verglichen mit allogener und xenogener Vollblutkontrolle.

Komplementtitration: HZ+iHS+aRS in steigender Menge (siehe Abb.5). In Vorversuchen wurde aRS zu iRS gegeben und zwar in steigender Menge bis bei gleichbleibendem HK die HXAR mit der gleichen Heftigkeit wie bei Perfusion mit HV auftrat. Zu einer Ausgangsmenge von 10 ml iHS wird aRS gegeben: Mit 2 ml aRS liegt V_p nach 60 min über dem V_p bei RV, mit 4 ml aRS bereits deutlich darunter. Mit 6 ml aRS tritt nach 40 min eine HXAR ein, mit 7 ml nach 15 min und mit 8 ml nach 10 min. Das Verhältnis iHS: aRS = 10 ml : 8 ml wurde beibehalten, die Perfusatzusammenstellung standardisiert. Das Verhalten von V_p wird im folgenden Versuchskollektiv beschrieben. Perfusion mit HZ+iHS+aRS: In den ersten 5 min fällt V_p von $3,76 \pm 0,1$ auf $0,54 \pm 0,1$ ml/g x min; nach 11,4 min durchschnittlich werden die Versuche wegen Unterschreitens der minimalen Perfusion abgebrochen. Perfusion mit HZ+iHS+iRS: Von $4,24 \pm 0,1$ ml/g x min fällt V_p innerhalb der ersten 5 min auf $0,54 \pm 0,1$ ml/g x min, erreicht erst langsam nach 16,4 min wieder die funktionelle Perfusion, steigt bis zur 40.min bis auf $2,4 \pm 0,4$ ml/g x min und bis zum Versuchsende nur noch geringfügig bis auf $2,58 \pm 0,4$ ml/g x min.

c) Perfusion mit zusammengesetzten Perfusaten mit absorbierten Seren:

Perfusion mit HZ+abs.HSg.RE+aRS: Von Perfusionsbeginn an fällt V_p von einem Anfangswert von $4,06 \pm 0,1$ ml/g x min innerhalb der ersten 5 min auf $0,42 \pm 0,0$ ml/g x min. Nach 16,2 min wurden die Versuche wegen Unterschreitens der Minimaldurchblutung abgebrochen.

Perfusion mit HZ+abs.HSg.RN+aRS: Hier fällt V_p von $4,16 \pm 0,2$ auf $0,42 \pm 0,0$ ml/g x min in den ersten 5 min. Nach 12,8 min unterschreitet V_p $0,3$ ml/g x min.

Perfusion mit HZ+abs.HSg.RN+iRS: In den ersten 5 min fällt V_p von $3,66 \pm 0,1$ auf $0,73 \pm 0,0$ ml/g x min. Nach 22,3 min wird die funktionelle Perfusion überschritten. Bis zur 60.min steigt V_p bis auf $3,50 \pm 0,3$ ml/g x min.

Perfusion mit RV+"abs.RS": Nach einem Abfall von V_p von $3,56 \pm 0,1$ auf $1,16 \pm 0,1$ ml/g x min in den ersten 5 min der Hauptperfusion steigt es bis zur 30.min. auf $2,96 \pm 0,2$ ml/g x min und bis zur 60.min nur noch minimal auf $3,10 \pm 0,4$ ml/g x min.

In zwei Einzelversuchen wurden noch orientierende Studien angestellt: Bei Perfusion einer Rattenniere mit Hundeblutzellen + Gel-

ifundol+aRS sollte eine unspezifische, durch das Perfusionssystem bedingte Komplementaktivierung ausgeschlossen werden: dabei fiel V_p in den ersten 5 min der Hauptperfusion von 4,08 auf 2,46 ml/g x min, stieg dann bis zur 15.min auf 4,88 ml/g x min und fiel dann kontinuierlich auf 2,95 ml/g x min nach 60 min. Mit der Perfusion einer Rattenniere mit Hundeerythrozyten + abs.HSg.RN+aRS sollte der Einfluß der Leukozyten auf die Komplementaktivierung ausgeschlossen werden (die Leukozyten konnten bis auf $300/\text{mm}^3$ reduziert werden): dabei fiel V_p von 4,00 auf 0,4 ml/g x min nach 5 min. Der Versuch wurde nach 9 min wegen Unterschreitens der Minimaldurchblutung von 0,3 ml/g x min abgebrochen.

3.2.2.5) Urinproduktion (siehe Tabelle 5a):

In allen Versuchen, bei denen ein Sistieren der Organdurchblutung nach wenigen Minuten beobachtet wurde, konnte keine Urinproduktion gemessen werden. Die höchste Urinproduktion wurde bei allogener Perfusion mit RV registriert. Von durchschnittlich 0,51 ml in den ersten 15 min stieg die Urinproduktion bis auf 1,24 ml in der vierten Viertelstunde. Dabei begann die Urinproduktion unmittelbar nach Perfusionsbeginn. Bei den restlichen Versuchen begann der Urinfluß erst ca. 10 min nach Hauptperfusionsbeginn und erreichte in etwa nur die halben Mengen/15 min verglichen mit den Werten bei Perfusion der Rattennieren mit RV. Im allgemeinen fand sich eine Korrelation zwischen Urinausscheidung und Perfusionsvolumen der Rattennieren.

Stichprobenartig durchgeführte Messungen des Verhältnisses Urinosmolarität: Serumosmolarität ($= U/P_{\text{osmol}}$) ergaben für unser Perfusionsmodell weder bei allogenen noch bei xenogenen Perfusionen einen Hinweis für eine Konzentrierungsarbeit des Nierenparenchyms.

Bei Prüfung des Urins abgestoßener Rattennieren, die mit diluierten Perfusat (HV mit HK = 20%) perfundiert worden waren, fand sich kein Hinweis für vasoaktive Substanzen im Urin.

Tabelle 5a: Produzierte Urinmengen (ml/15 min) während der 60-minütigen Perfusion der Rattennieren mit den verschiedenen Perfusaten und Messung der Urinmenge während 2 min im 10-minütigen Abstand (= Urinfaktor):

Perfusat	Urinproduktion/15 min				Urinfaktor					
	15	30	45	60	9/10	19/20	29/30	39/40	49/50	59/60
RV	0,51 +0,1	1,02 +0,2	1,12 +0,2	1,24 +0,2	0,09 +0,04	0,14 +0,05	0,15 +0,05	0,16 +0,05	0,17 +0,04	0,16 +0,04
HV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neugeb.HV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HZ+iHS	0,08 +0,0	0,29 +0,1	0,43 +0,1	0,53 +0,2	-	0,02 +0,01	0,05 +0,01	0,07 +0,03	0,09 +0,03	0,07 +0,03
HZ+iHS+aRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HZ+iHS+iRS	0,11 +0,0	0,22 +0,1	0,39 +0,1	0,61 +0,2	-	0,02 +0,01	0,04 +0,02	0,07 +0,02	0,08 +0,03	0,08 +0,02
HZ+abs.HSg.RE +aRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HZ+abs.HSg.RN +aRS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HZ+abs.HSg.RN +iRS	0,13 +0,0	0,15 +0,0	0,32 +0,0	0,39 +0,1	-	0,02 +0,01	0,03 +0,01	0,06 +0,03	0,06 +0,03	0,07 +0,02
RV+"abs.RS"	0,28 +0,1	0,45 +0,2	0,63 +0,2	0,75 +0,1	-	0,07 +0,06	0,07 +0,04	0,10 +0,03	0,11 +0,02	0,12 +0,01

Tabelle 5b: Ergebnisse über das Vorliegen von Mikro- und Makrohämaturie im über jeweils 15 min gesammelten Urin der verschiedenen Versuchsgruppen (angegeben ist jeweils die Zahl der Versuche mit dem entsprechenden Ergebnis/Gesamtversuchszahl):

Perfusat	Mikrohämaturie				Makrohämaturie			
	15	30	45	60	15	30	45	60
RV	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
HZ+iHS	5/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5
HZ+iHS+iRS	3/5	3/5	3/5	3/5	0/5	0/5	0/5	0/5
HZ+abs.HSg.RN +iRS	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
RV+"abs.RS"	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3

Bei Perfusion einer Rattenniere mit allogenem RV wurden dem Perfusat im arteriellen Schenkel in 5-minütigen Abständen jeweils 1 ml verdünnter (1:10 mit Ringerlösung verdünnt) Urin zugegeben. Dabei konnten keine Druckschwankungen beobachtet werden, die auf vasoaktive Substanzen im Urin abgestoßener Nieren schließen lassen könnten.

Hämaturie: In keinem der produzierten Urine konnte eine Makrohämaturie festgestellt werden. Eine Mikrohämaturie geringen Ausmaßes wurde bei den Perfusaten RV und HZ+HS im produzierten Urin von Anfang an beobachtet, bei HZ+iHS+iRS in 3 von 5 Fällen. Dagegen fehlte eine Mikrohämaturie in den Versuchsgruppen HZ+abs.HSg.RN+iRS und RV+"abs.RS" (siehe Tabelle 5b).

3.2.2.6) Differentialblutbilder der Leukozyten (siehe Tabelle 6)
Das Blut wurde dem zirkulierenden Perfusat kurz vor dem Eintritt in die perfundierte Niere im arteriellen Schenkel jeweils zu Versuchsbeginn und kurz vor dem Versuchsende entnommen. Das Gesamt-

blutvolumen betrug 33 ml im System. Bei jenen Versuchen, die nach 10 - 30-minütiger Perfusion bereits beendet waren, passierten nur 5 - 10 ml Perfusat die Niere. Da das venöse Reservoir, in dem die Niere schwamm, allein schon 28 ml faßte, konnten bei dem arteriell entnommenen Blut der kurz laufenden Versuche keine Unterschiede im weißen Blutbild zwischen Versuchsbeginn und Versuchsende festgestellt werden, da das gesamte Volumen noch nicht einmal zu einem Drittel umgewälzt war. Die Ergebnisse beschränken sich auf die 60 min laufenden Versuche. Dabei wurden in etwa 100 - 200 ml Blut durch die Niere gepumpt, das entspricht dem 3-6-fachen des gesamten Blutvolumens im System. Der bei der HXAR beobachtete Abfall der segmentkernigen Granulozyten bis zu 10% im venösen Efflux gegenüber dem arteriellen Zufluß konnte bei allogenen und xenogenem Perfusat mit inaktivierten Seren nicht nachgewiesen werden. Der beobachtete Abfall lag stets im Bereich der bei der Zählung möglichen Fehlerbreite, was neben dem Verhalten von V_p gegen eine HXAR spricht.

Tabelle 6: Differentialblutbilder: Anteil der segmentkernigen Granulozyten am weißen Blutbild zu Versuchsbeginn und am Versuchsende:

Perfusat	segmentkernige Granulozyten % im Perfusat	
	Versuchsbeginn	Versuchsende
RV	18 $\pm$ 1	13 $\pm$ 1
HZ+iHS	61 $\pm$ 1	57 $\pm$ 2
HZ+iHS+iRS	68 $\pm$ 6	55 $\pm$ 3
HZ+abs.HSg.RN +iRS	73 $\pm$ 8	66 $\pm$ 5
RV+"abs.RS"	13 $\pm$ 1	11 $\pm$ 1

3.3) Pathologisch-anatomische Befunde der Nieren:

3.3.1) makroskopisch:

Nach dem Ausspülen des Rattenblutes in der Vorperfusion erschien die Nierenoberfläche einheitlich beige. Bereits nach 2-minütiger Hauptperfusionszeit zeigten die Organe wieder eine einheitliche rotbraune Farbe. Bei Perfusion mit HV, Neugeb.HV und HZ+iHS+aRS verfärbten sich dann große Bezirke der Nierenoberfläche dunkelbraun bis violett, während sie bei Perfusion mit RV ihre rotbraune Farbe beibehielt. Mit HZ+abs.HSg.RE+aRS und HZ+abs.HSg.RN+aRS war nach kurzer Perfusionszeit eine dunkelbraune bis violette Sprenkelung der Nierenoberfläche zu beobachten, während sich die restliche Oberfläche graubraun dagegen abhob.

Nach Beendigung der nur kurz laufenden Versuche imponierte auf den Schnittflächen der Nieren eine Hämorrhagie im Bereich des Nierenmarks, welches sich deutlich gegen die hellere, wie es schien minder durchblutete, Rinde absetzte.

3.3.2) mikroskopisch^{*)}:

In Tabelle 7 sind die wesentlichsten pathologisch-histologischen Veränderungen, sowie eine Beurteilung über den Grad der HXAR in den Einzelversuchen der verschiedenen Versuchsgruppen zusammengestellt.

Perfusion mit RV (siehe auch Abb. 8): Wesentliche pathologisch-histologische Veränderungen wurden nicht gefunden. Im Kapillarlumen fanden sich in 2 Nieren vermehrt segmentkernige Granulozyten, sowie in 3 Nieren Mikrothromben. Da hier praktisch keine Schäden bei ausreichendem Perfusionsvolumen auftraten, ist die Wertigkeit der Perfusionsmethode bewiesen.

Perfusion mit HV (siehe auch Abb. 9): In allen 5 Nieren wurde das charakteristische Bild der HXAR gefunden, mit Thrombozytenaggregaten in Arterien und Arteriolen, Fibrinmikrothromben, Thrombozytenaggregaten und Granulozytenvermehrung in den Glomeruluskapillaren. Am Glomerulusendothel fanden sich Kernpyknosen, in einer Niere war bereits eine Endothelzellnekrose aufgetreten, wie sie frühestens nach 10 min zu sehen ist. Durch Immunfluoreszenz wurden fein-

^{*)} Für die Überlassung der histologischen Befunde und Abbildungen bin ich Herrn Priv.-Doz. Dr. K.Pielsticker vom Pathologischen Institut der Universität München sehr zu Dank verpflichtet.

granulierte lineare Ablagerungen von Komplement an den Gefäßwänden nachgewiesen, schwach ausgeprägt in Arterien und Arteriolen, stärker dagegen in den Glomeruli.

Perfusion mit Neugeb.HV (siehe auch Abb. 10): Hier streute der Grad der Abstoßung, jedoch mit Tendenz zum Vollbild der HXAR. In 6 Nieren fanden sich in Arterien und Arteriolen typische Thrombozytenaggregate, die Granulozyten waren in 4, die Fibrinmikrothromben in 3 Nieren vermehrt. In den Glomeruluskapillaren waren die Granulozyten immer vermehrt, auch fanden sich stets Thrombozytenaggregate. Am Endothel der Glomeruli trat eine Kernpyknose in 6 Nieren auf, Nekrose in 2 Nieren. Im Glomerulus war IgG schwach nachweisbar in 4 Fällen, in 6 Fällen war fixiertes Komplement schwach ausgeprägt vorhanden. Zusammenfassend wurden 5 Nieren als hyperakut abgestoßen beurteilt, 2 Nieren als möglicherweise abgestoßen, eine Niere zeigte keine Zeichen für eine abgelaufene HXAR.

Perfusion mit HZ+iHS: 4 Nieren zeigten keine typischen Zeichen der HSXR, während eine Niere möglicherweise am Beginn einer HXAR stand. Gemeinwar allen 5 Nieren das intakte Endothel, das bei der HXAR Hauptangriffspunkt der komplementbindenden Antikörper ist. Thrombozytenaggregate traten wenn, dann nur selten in Arterien und Arteriolen zweier Nieren auf, in den Glomeruluskapillaren in 3 Nieren. Ebenso waren vereinzelt Fibrinmikrothromben in allen Gefäßen von 3 Nieren zu finden. Die Granulozyten waren in den größeren Gefäßen zweier Nieren vermehrt, in den Glomeruluskapillaren dagegen immer.

Perfusion mit HZ+iHS+aRS: Eine Granulozytenvermehrung zeigte sich immer in den Gefäßen aller Nieren. Thrombozytenaggregate fanden sich in den Glomeruluskapillaren stets, ihre Häufigkeit nahm in den großen Gefäßen ab. Fibrinmikrothromben traten in 4 Nieren auf. Das Endothel von 4 Nieren war intakt, an einer fünften Niere beobachtete man in den Glomeruli Endothelkernpyknosen. Diese Niere wurde als hyperakut abgestoßen bewertet.

Perfusion mit HZ+iHS+iRS: Die 5 Nieren hatten ein intaktes Endothel, zudem fehlten stets Thrombozytenaggregate. In 2 Nieren fanden sich in Arterien und Arteriolen vermehrt Granulozyten, in den Glomeruluskapillaren waren sie immer vermehrt. 2 Nieren zeigten zudem fibrinoide Mikrothromben in den kleinen Gefäßen. Alle 5 Nieren wurden nicht hyperakut abgestoßen.

Perfusion mit HZ+abs.HSg.RE+aRS: Die Arterien, Arteriolen und Gefäßendothelien blieben immer unauffällig. Die Glomeruluskapillaren beinhalten stets vermehrt Granulozyten, einmal fibrinoide Mikrothromben und vereinzelte Thrombozytenaggregate. Die histologischen Befunde sprechen bei allen 5 Nieren eindeutig gegen eine HXAR im klassischen Sinn.

Perfusion mit HZ+abs.HSg.RN+aRS (siehe auch Abb. 11): 4 Nieren zeigten unauffällige Arterien und Arteriolen, 1 Niere dagegen in allen Gefäßen fibrinoide Mikrothromben. In allen Nieren waren die Granulozyten vermehrt, die Endothelien aber intakt. Die Nieren wurden als nicht hyperakut abgestoßen bewertet.

Perfusion mit HZ+abs.HSg.RN+iRS: Arterien und Arteriolen blieben unauffällig. Dagegen fanden sich in allen 3 Nieren in den Glomeruluskapillaren vermehrt Granulozyten und fibrinoide Mikrothromben, bei stets intakten Endothelien. Diese Befunde sprechen gegen das Vorliegen einer HXAR.

Perfusion mit RV+"abs.RS": 2 von 3 Nieren zeigten fibrinoide Mikrothromben in allen Gefäßen, eine Niere hatte in den Glomeruluskapillaren eine Granulozytenvermehrung. Unauffällige Endothelien sprechen bei allen 3 Nieren gegen eine HXAR.

Zusammenfassend: Um histologisch eine HXAR zu diagnostizieren, sind für unser Versuchsmodell zumindest das gleichzeitige Vorhandensein von Thrombozytenaggregaten und Endothelkernpyknosen zu fordern, wie dies bei HV, teilweise bei Neugeb.HV und einmal bei HZ+iHS+aRS der Fall war. Die segmentkernigen Granulozyten sind nach allen xenogenen Perfusionen in den Nieren vermehrt und deshalb als Abstoßungskriterium einer HXAR an unserem Modell nicht geeignet. Dasselbe gilt für die Fibrinmikrothromben.

Bei Perfusion der Rattennieren mit Perfusaten mit xenogenen, absorbierten Seren treten keine Endothelläsionen auf. Bei Anwesenheit von aktivem Komplement zusammen mit Empfängerzellen und absorbiertem, xenogenem Serum kann keine Korrelation zwischen histologischen Befunden und dem Verhalten der Perfusionsvolumina mehr gesehen werden.

Tabelle 7: Pathologisch-histologische Veränderungen an den perfundierten Rattenmieren

Perfusat	Glomerulus				histologische Beurteilung
	Arterien	Arteriolen (vas afferens)	Kapillarlumen	Endothel	
RV	unauffällig (5/5)	unauffällig (5/5)	Mikrothromben (3/5) Granulozytenvermehrung (2/5)	unauffällig (5/5)	- (5/5)
HV	Thrombozytenagregate (4/5)	Thrombozytenagregate (5/5)	Thrombozytenagregate+Fibrinmikrothromben (5/5) Granulozyten (5/5)	Nekrose (1/5) Kernpyknose (5/5) IgG+C' (5/5)	+ (5/5)
Neugeb. HV	Granulozytenvermehrung (4/8) Fibrinmikrothromben (3/8) Thrombozytenagregate (6/8)	Granulozytenvermehrung (4/8) Fibrinmikrothromben (3/8) Thrombozytenagregate (6/8)	Graulozytenvermehrung (8/8) Fibrinmikrothromben (3/8) Thrombozytenagregate (8/8)	Kernpyknose (6/8) Nekrose (2/8) IgG schwach (4/8) und C' schwach (6/8)	- (1/8) ? (2/8) + (5/8)
HZ+iHS	Granulozytenvermehrung (2/5) Fibrinmikrothromben (3/5) Thrombozytenagregate (1/5)	Granulozytenvermehrung (2/5) Fibrinmikrothromben (3/5) Thrombozytenagregate (1/5)	Thrombozytenagregate (3/5) Fibrinmikrothromben (3/5) Granulozytenvermehrung (5/5)	unauffällig (5/5)	- (4/5) ? (1/5)
HZ+iHS+HRS	Thrombozytenagregate (2/5) Granulozytenvermehrung (5/5) Fibrinmikrothromben (4/5)	Thrombozytenagregate (3/5) Granulozytenvermehrung (5/5) Fibrinmikrothromben (4/5)	Thrombozytenagregate (5/5) Granulozytenvermehrung (5/5) Fibrinmikrothromben (4/5)	Kernpyknose (1/5) unauffällig (4/5)	? (4/5) + (1/5)

(In Klammern jeweils die Zahl der Versuche mit entsprechendem Ergebnis / Gesamtversuchszahl
 - keine HXAR, ? fragliche HXAR, + HXAR

Tabelle 7 (Fortsetzung): Pathologisch-histologische Veränderungen an den perfundierten Nieren

Perfusat	Arterien	Arteriolen (vas afferens)	Glomerulus		Endothel	histologische Beurteilung
			Kapillarlumen			
HZ+iHS+iRS	Granulozyten- vermehrung (2/5)	Granulozytenver- mehrung (2/5) fibrinoide Mikro- thromben (2/5)	Granulozytenver- mehrung (5/5) Fibrinmikro- thromben (2/5)		unauffällig (5/5)	- (5/5)
HZ+abs.HSg.RE +aRS	unauffällig (5/5)	unauffällig (5/5)	Granulozytenver- mehrung (5/5) Fibrinmikro- thromben und Thrombozytenag- gregate (1/5)		unauffällig (5/5)	- (5/5)
HZ+abs.HSg.RN +aRS	unauffällig (4/5) fibrinoide Mi- krothromben (1/5)	unauffällig (4/5) fibrinoide Mikro- thromben (1/5)	Granulozytenver- mehrung (4/5) fibrinoide Mikro- thromben (1/5)		unauffällig (5/5)	- (5/5)
HZ+abs.HSg.RN +iRS	unauffällig (3/3)	fibrinoide Mikro- thromben (1/5)	Granulozytenver- mehrung (3/3) fibrinoide Mikro- thromben (3/3)		unauffällig (3/3)	- (3/3)
RV+"abs.RS"	fibrinoide Mi- krothromben (2/3)	fibrinoide Mikro- thromben (2/3)	Granulozytenver- mehrung (1/3) fibrinoide Mikro- thromben (2/3)		unauffällig (3/3)	- (3/3)

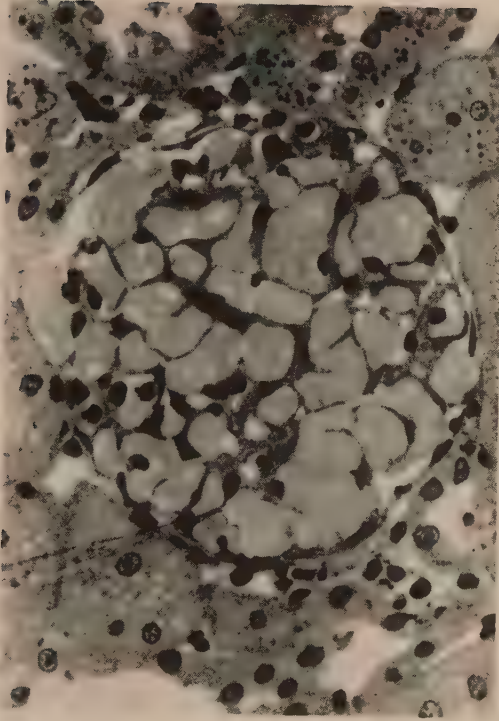


Abb. 8: Allogene Perfusion mit Rattenvollblut: gut erhaltener
Glomerulus (Giemsa 400fach)
keine Abstoßungsreaktion.

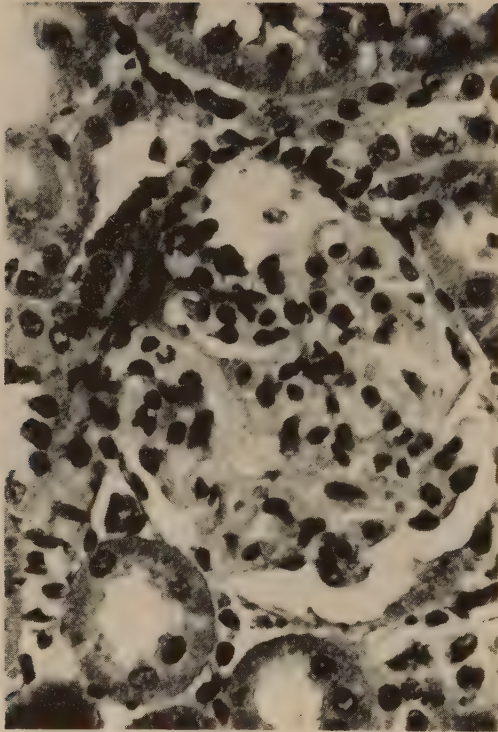


Abb. 9: Xenogene Perfusion mit HV: Vollbild der HXAR mit Thrombozytenaggregaten, Fibringerinnsehn, Endothelkernpyknosen und Endothelläsionen im Glomerulus. (Giemsa 400fach)

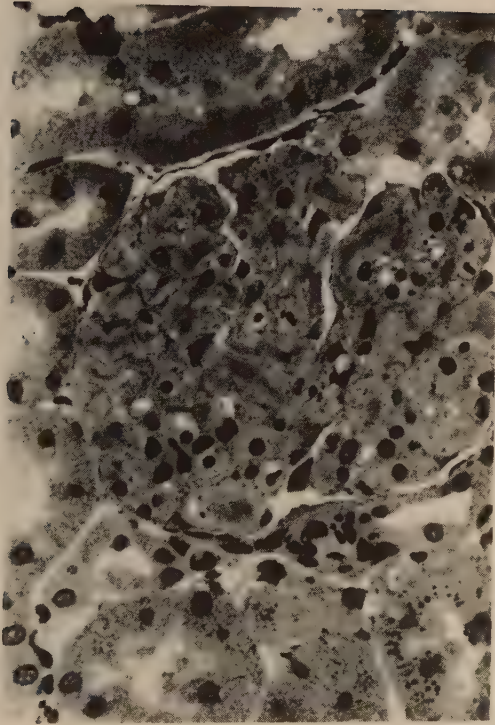


Abb. 10: Xenogene Perfusion mit Neugeb.HV: beginnende Abstoßungs-
reaktion: in den Gefäßschlingen des Glomerulus Thrombo-
zytenaggregate und vereinzelt Endothelkernpyknosen.
(Giemsa 400fach)

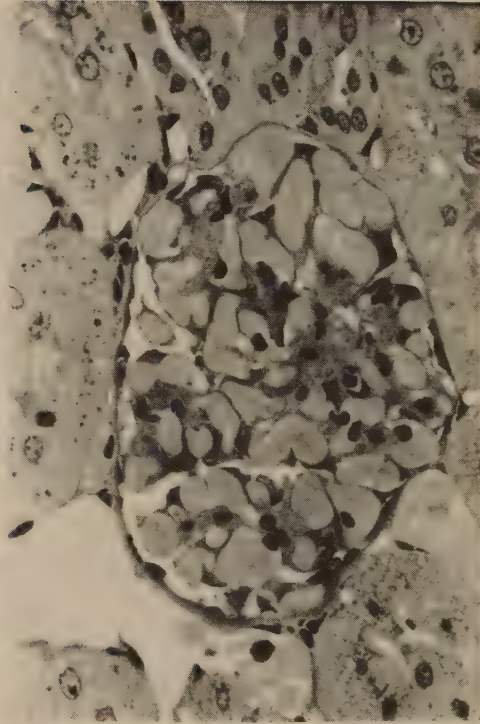


Abb. 11: Xenogene Perfusion mit HZ+abs.HSg.RN+aRS: keine Abstoßungszeichen, gut erhaltener Glomerulus.
(Giemsa 400fach)

PERFUSAT	Empfängerzellen(HZ)			Empfängerserum (HS)				C'-Quelle(RS)		HXAR	
	Erythr.	Leukoz.	Thrombo	HS	Häm-Ak	Kb-Ak	C'	RS	C'	Flow stop	Pathologie
HV	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	++
RV	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
NeugeborenenHV	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
HZ+IHS	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
HZ+IHS+aRS	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
HZ+IHS+IRS	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
HZ-abs.HS+aRS	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-
HZ-abs.HS+aRS	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-
RV-abs.RS"	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
HZ-abs.HS+IRS	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Ery-abs.HS+aRS	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-
HZ+GE+aRS	+	+	+	Gelifundol				+	+	-	-

Abb. 12: Zusammenfassung der Zusammensetzung der verschiedenen Perfusate und vereinfachte Darstellung der rheologischen und histologischen Ergebnisse.

4) DISKUSSION

Die hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion (HXAR) limitiert die Überlebenszeit xenogener Transplantate im genetisch entfernt verwandten System auf Minuten bis Stunden. Um die Überlebenszeit der xenogenen Transplantate erfolgreich und sinnvoll verlängern zu können, muß zuvor die HXAR in ihrer ganzen Komplexität, d.h. in allen pathophysiologischen Details, aufgeklärt werden. Erst nachdem alle kausalen Faktoren der HXAR bekannt sind, läßt sich durch deren Ausschaltung eine Verlängerung der Überlebenszeit erzielen. Dazu ist die Frage der Übertragbarkeit des Mechanismus der HXAR einer Spender-Empfänger-Kombination auf eine andere nicht geklärt. Die heutigen Erkenntnisse lassen eine Übertragung solcher Befunde bei weitem noch nicht zu (12, 50).

In dieser Arbeit sollte versucht werden, mit Hilfe der xenogenen In-vitro-Hämoperfusion, neben der spezifischen, durch Antigen-Antikörperreaktion verursachten immunologischen Reaktion, Hinweise für einen dazu parallel verlaufenden, unspezifischen und antikörperunabhängigen Vorgang zu finden, der die HXAR beschleunigt. Vermutungen und erste experimentelle Hinweise wurden bereits beschrieben (15, 19, 33, 95).

Als experimenteller Ansatzpunkt zur Erforschung der für die HXAR verantwortlichen Faktoren gilt die isolierte Perfusion von Spennieren (Ratte) mit entsprechend getrennten zellulären und humoralen Einzelkomponenten aus dem Empfängerblut (Hund) mit "Wiederauffinden" der Abstoßungsaktivität in den getesteten Empfängerblutkomponenten. In dieser Arbeit sollte das Verhalten der Rattennieren bei Perfusion mit Hundeblood ohne präformierte Antikörper untersucht werden. Der Rolle des Komplementsystems galt dabei die besondere Aufmerksamkeit.

Die Vorteile einer isolierten In-vitro-Perfusionstechnik gegenüber Versuchen in vivo sind zu diesem Zweck eindeutig: Eine Modifizierung des Empfängerbluts (= Perfusat) ist in vivo nicht oder nur sehr schwierig, in vitro dagegen sehr viel leichter durchzuführen. Zum zweiten rechtfertigt das Minutengeschehen der HXAR im von uns gewählten System Ratte - Hund den Aufwand einer Transplantation nicht. Außerdem kann durch das Minutengeschehen der HXAR in unserem Modell die Organschädigung, bedingt durch die artefizielle

Perfusion, wegen der kurzen Perfusionszeiten vernachlässigt werden.

Zunächst sollen einige wesentliche Aspekte der Methodik und die Ergebnisse diskutiert werden. Anschließend soll anhand der Ergebnisse eine Deutung der HXAR unter besonderer Berücksichtigung des Komplementsystems versucht werden.

4.1) Diskussion der Methodik

In diesem Kapitel sollen das Perfusionsmodell und die Perfusionstechnik kurz diskutiert werden. Weiter wird auf das Perfusat, die Reproduzierbarkeit der HXAR in vitro und die Abstoßungskriterien an diesem Modell eingegangen.

4.1.1) Perfusionsmodell und Perfusionstechnik:

Um verschiedene Versuchsgruppen miteinander vergleichen zu können, ist es eine unabdingbare Bedingung für die gleichen Ausgangsbedingungen bei allen Versuchen zu sorgen. Durch ständige Verbesserung des Perfusionssystems und der Perfusionstechnik wurden die Versuchsbedingungen so standardisiert, daß unspezifische äußere Faktoren das Geschehen der HXAR in vitro so wenig als möglich beeinflussen können.

Das von MENDLER, WEISSHAAR und BRENDEL (71) beschriebene Modell wurde abgewandelt. Es wurde versucht, eine mechanische Schädigung verschiedener Bestandteile des Perfusats so weit als möglich auszuschließen. v.LIEBE verwandte erstmals die von G.H.MARX und R. WELLS et al. (107) beschriebenen Membranoxygenatoren anstelle der nachteiligen Bubble-Oxygenatoren (43). Dabei wird durch Vermeiden einer Blut-Gas-Interphase eine Denaturierung großer globulärer Proteine verhindert, die Zahl der nicht abstoßungsbedingten Zell-Fibrin-Emboli im System dadurch drastisch vermindert (3). A.SCHILLING verwandte die von T.I.MARX entwickelte Methode (68), durch senkrechtes Anblasen der Kapillaren diese so in Schwingung zu bringen, daß der an der Wand haftende oxygenierte Blutfilm so verschoben wird, daß eine Oxygenierung von der Wand weiter entfernt liegender Blutschichten nicht behindert wird. Weiter konnte A.SCHILLING durch Okklusivstellen der Pumpe gegen eine Wassersäule definierter Höhe, mit der Möglichkeit eventuelle Abnützungen des Pumpenschlauchs durch Veränderungen im Lagerspiel der Pumpenachse

auszugleichen, eine längere Lebensdauer der Pumpenschläuche und die Konstanz des Anpreßdrucks über die Dauer sämtlicher Versuche erzielen.

Vor den jetzt durchgeführten Versuchen wurde das Reibradgetriebe der Pumpe durch einen Wechselstrommotor ersetzt, der durch geeignete Widerstandsschaltung auch bei niedrigen Drehzahlen regelmäßig läuft und auf eventuelle Drehzahländerungen nicht mehr ruckartig anspricht. Durch bessere Lagerung der Pumpenwalzen drehen sich diese leichter in sich. Dies führt dazu, daß beim Ausstreichen des Pumpenschlauchs zwischen Pumpenbacken und Pumpenwalzen geringere Scherkräfte auf das Perfusat wirken. Dadurch wird eine mögliche Traumatisierung korpuskulärer Perfusatbestandteile vermindert. Nach einstündiger Perfusion des leeren Systems mit Hundevollblut konnte tatsächlich photometrisch keine Hämolyse des Perfusats nachgewiesen werden. Thrombozytenaggregate als Folge von Thrombozytenläsionen wurden ebenfalls nicht gefunden. Der Forderung von NIZET et al. (78) nach möglichst geringer Hämolyse bzw. Zellschädigung konnte somit nachgekommen werden.

Die Pumpe erzeugt eine Druckamplitude von 14 mm Hg, was als nahezu kontinuierlicher Blutfluß angesehen wird. A. SCHILLING diskutierte bereits die Unterschiede zwischen pulsatiler und nichtpulsatiler (= kontinuierlicher) Perfusion (77). Nach PAQUET et al. (79) sind größere Hämolyse, höherer Anstieg des Gefäßwiderstandes, Gewichtszunahme und pH-Abfall die Folge kontinuierlicher Perfusion. Es fehlen jedoch die bei pulsatiler Perfusion beobachteten Tubulusläsionen. Der Nachteil schlechterer renaler Funktion bei kontinuierlicher Perfusion mußte zugunsten der Verhütung nicht abstoßungsbedingter histologischer Veränderungen in Kauf genommen werden. Hier muß betont werden, daß nicht das Studium oder das Erreichen der Nierenfunktion beabsichtigt war, sondern lediglich die Veränderungen der Blutdurchströmung bei Vergleich von allogener und xenogener Perfusion entscheidend waren. Bei dem kurzen Geschehen der HXAR erreicht die Niere auch in vivo keine Funktion mehr.

LEICHTWEISS, SCHRÖDER und WEISS forderten für Rattennieren eine geringere Anoxiezeit als 10 min bei Normothermie (42, 43); andernfalls kommt es zur hypoxischen Schädigung des Nierenparenchyms durch enzymatisch aktiven Abbau des Nierenzellzytoplasmas. In den

durchgeführten Versuchen lagen die Anoxiezeiten unter 5 min. Einer hypoxischen Schädigung der Niere konnte dadurch vorgebeugt werden, was durch die histologische Untersuchung der Rattennieren bestätigt wurde. Ein Erliegen der Autoregulation der Nierendurchblutung, das LEICHTWEISS bei längerer Hypoxie als 15 min findet, konnte vermieden werden. In der Vorperfusion sollte durch langsames Steigern des Druckes die Niere vom restlichen heparinisierten Spenderblut befreit werden. Dabei sollten Ischämiezeiten von 15 min nicht überschritten werden und ein Perfusionsvolumen von mindestens 3 ml/g x min erreicht werden. Dies wurde jedoch oft durch einen starken Widerstandsanstieg in den Nierengefäßen zu Beginn der Vorperfusion erschwert. Nach der myogenen Hypothese von BAYLISS (6) erfolgt bei arterieller Druckerhöhung über die Steigerung der Gefäßwandspannung ein Reiz auf die glattmuskulären Vasomotoren, die ihrerseits mit einer Frequenzerhöhung ihrer rhythmischen Kontraktionen antworten. Der so über die Zeit gemittelte verminderte Durchmesser der Gefäße bedingt den Widerstandsanstieg.

MESSMER und SCHMIDT-MENDE beobachteten eine von der Denervierung unabhängige Kältevasokonstriktion der Nierengefäße (72). Während der Anoxiezeit kühlte die Niere bei unseren Versuchen zwangsläufig auf Zimmertemperatur ab. Die Ringerlösung der Vorperfusion war jedoch auf 37°C erwärmt. Da die Vorperfusion aber außerhalb des geschlossenen Systems stattfand, waren Kältereize von außen immerhin möglich. HINSHAW und WORTHERN (41) weisen auf das Freiwerden adrenerger Substanzen bei normothermer Flowunterbrechung hin, was zu einer postokklusiven Ischämie führt. Des weiteren führt der fehlende kolloidosmotische Druck (= KOD) der Ringerlösung bereits in der Vorperfusion zu Ödemen, die in Gewichtszunahmen bis zu 50% ihren Ausdruck finden. Der dadurch entstehende Gewebedruck könnte durch Druck auf die Gefäße ebenfalls den Flow vermindern. Inwieweit es durch Überwinden dieses erhöhten Gefäßwiderstandes während der Vorperfusion zu funktionellen Schäden in der Niere kommt, kann nur schwer abgeschätzt werden. Morphologisch konnten aber außer der Gewichtszunahme besonders an den für unser Problem wichtigen Gefäßendothelien (1, 27, 101) keine durch die Vorperfusion bedingten Schäden festgestellt werden.

In der Hauptperfusion wird die Rattenniere maximal 1 Stunde hämo-

perfundiert. Der Einfluß funktioneller Schäden auf die Durchblutung sollte in dieser Zeit möglichst klein gehalten werden. Das Perfusionsvolumen bei allogener Perfusion ist dann Ausdruck aller nicht abstoßungsbedingter Alterationen bei Operation und isolierter Perfusion. NIZET hält eine normale Funktion der Niere bei isolierter Perfusion für möglich, schränkt jedoch ein, daß mit zunehmender Dauer eine nicht beeinflussbare Verschlechterung der Filtrations- und Konzentrierungsprozesse auftritt, für die er zumindest teilweise perfusionsbedingte Ödeme verantwortlich macht. Die Überlebenszeit der Niere und die dabei ständig abnehmenden Parameter ihrer Funktion bei isolierter Perfusion sollen hier nicht besprochen werden, da dies über den Rahmen dieser Arbeit hinausgeht. Es muß hier auf die Literatur verwiesen werden (30, 99).

Wie in früheren Versuchen wurden die Spendertiere 1 Stunde vor Versuchsbeginn mit 10 ml 0,45%-iger NaCl-Lösung belastet. Durch Expansion des Extrazellulärtraumes sollte bei Hypervolämie eine Verminderung des Na-Angebots im Harn im Bereich der macula densa herbeigeführt werden, wodurch die Reninausscheidung vermindert wird (105). Durch den fehlenden Reiz auf den Renin-Angiotensin-Mechanismus kommt es zur Dilatation der vasa afferentia und zur Mehrdurchblutung der Glomeruli. Die gleichzeitige Hypervolämie und Hyponatriämie stoppen auch die ADH-Freisetzung, die Nieren befinden sich zum Zeitpunkt der Organentnahme im Zustand einer Wasserdiurese. Dadurch werden vergleichbare Ausgangsbedingungen für die Spenderorgane geschaffen. Durch das Fehlen von ADH im Perfusionssystem wird die Wasserdiurese vom Versuchsbeginn an in allen Versuchen beibehalten.

4.1.2) Perfusat

In den Versuchen von v.LIEBE, SCHILLING, ALDENHOFF und CORRELL wurde mit diluiertem Perfusat (HK = 20%) gearbeitet. Auf 10 ml Blutanteile kamen 14 ml Ringerlösung. In den jetzt durchgeführten Versuchen wurde mit nahezu nicht diluiertem Blut perfundiert. In unseren Vorversuchen wurde versucht, ebenfalls mit diluiertem Perfusat zu arbeiten. Ein Sistieren der Organdurchblutung, das bei gleicher Dilution in früheren Versuchen nach 1 Stunde beobachtet wurde, trat selbst nach zweistündiger Perfusion mit xenogenem HV nicht ein. Die Durchblutung fiel zwar auf 50% des Ausgangswertes, war aber trotzdem noch im funktionellen Bereich. Erstaunlicherweise

se zeigten sich jedoch an den so perfundierten Nieren schon alle histologischen Veränderungen im Sinne einer HXAR, mit zum Teil deutlichen Endothelkernpyknosen und Endothelnekrosen. Dies deutet daraufhin, daß tatsächlich nicht erst durch die Antigen-Antikörper-Reaktion und die komplementvermittelte Zerstörung der Endothelien der Durchblutungsabfall bei der HXAR entsteht. Vielmehr ist ein sehr viel früher einsetzendes vasoaktives Prinzip anzuschuldigen.

Um die HXAR nun wieder in einem kürzeren Beobachtungszeitraum ablaufen zu lassen und die bei so langer Versuchsdauer nicht auszuschließenden, perfusionsbedingten Schäden an der Niere zu vermeiden, wurde das Perfusat nicht mehr diluiert. Nur ein Restvolumen von 3 ml Ringerlösung aus der Vorperfusion verblieb im Perfusions-system, um einen kontinuierlichen Übergang zur Hauptperfusion zu gewährleisten. Auf diese Weise konnte die Laufzeit bei xenogener Perfusion mit HV auf 10 - 20 min reduziert werden. Das hatte aber auch zur Folge, daß die Urinproduktion nicht mehr in Gang kam, was den In-vivo-Versuchen im gleichen Spender-Empfängersystem entspricht. Auch die Laufzeit und die Perfusionsvolumina lagen im gleichen Bereich, wenn eine Rattenniere direkt an die art.femoralis eines heparinisierten Hundes angeschlossen wurde (96). Der Vorteil der Hämatokriterhöhung ist in den dadurch fast normalen Werten des kolloidosmotischen Drucks zu sehen. Die Gewichtszunahme der Rattennieren bis zum Ende der Vorperfusion bis zu 50% wurde in allen Fällen wieder reduziert. Der hydrostatische Druck der Interstitialflüssigkeit und der onkotische Druck des Perfusates übertreffen dabei den Filtrationsdruck.

Als mögliche Ursachen für die gegenüber den früheren Versuchen mit diluierten Perfusaten verlängerten Laufzeiten kommen in Frage:

- a) Geringere Hämolyse und verminderte Thrombozytenaggregationen durch Verwendung eines stufenlos regulierbaren Antriebsaggregates der Pumpe.
- b) Heparinisierung des Spenderkreislaufs mit nur noch 100 E Lique-min/10 ml Blut (gegenüber 750 E bei früheren Versuchen). Die bei höheren Dosen beobachteten Endothelläsionen in den Glomeruli bei intraartoaler Injektion werden mit 100 E zumindest vermindert.

c) Zudem wurde auch das Empfängerblut nur noch mit 100 E Liquemin/10 ml Perfusat heparinisiert (früher 750 E). Bei den jetzigen Dosen tritt eine komplementinaktivierende Wirkung des Heparins noch nicht auf (66). In Vorversuchen wurde diese minimale Dosis ermittelt, die zwar eine Gerinnung verhindert, das Komplementsystem aber noch nicht schwächt (67, 84).

Die kürzere Perfusionszeit bei höherem Hämatokritwert des Perfusates zeigt die Bedeutung der Hämodilution für die Verlängerung der Überlebenszeit xenogener Organtransplantate (73).

Um eine Komplementinaktivierung an der Luft zu verhindern, wurden die Arbeitsgänge bei Zimmertemperatur möglichst kurz gehalten. Zudem wurden als komplementhaltige Seren nur frisch gewonnene Seren verwendet. Vollblut wurde sofort nach seiner Gewinnung perfundiert, um eine Zellschädigung mit nachfolgender Freisetzung vasoaktiver Substanzen zu vermeiden. Bei der fraktionierten Zellpräparation wurden die Zellen deswegen mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen. Bei der Thrombozytenzubereitung traten während einer Experimentierphase im Frühjahr gehäuft Thrombozytenaggregate auch bei Verwendung verschiedener Spenderhunde und gleichbleibendem Gewinnungsverfahren auf. Der Thrombozytenfragilität galt dann unsere besondere Aufmerksamkeit. SIXMA (98) weist auf eine zunehmende Tendenz zur reversiblen Thrombozytenaggregation bei höheren Zentrifugenumdrehungszahlen als 1200 U/min hin. Bei höheren Umdrehungszahlen als 1800 U/min wird das auf die Niere vasokonstriktorisch wirkende Serotonin freigesetzt, und es kommt zu irreversiblen Thrombozytenaggregaten. Ferner wurde durch Einhalten des physiologischen pH-Wertes bei der Präparation darauf geachtet, dem bei pH = 8 liegendem Aggregationsoptimum möglichst auszuweichen. Die Zugabe von Heparin zu Vollblut verursacht nach EIKA (22) eine geringe reversible Thrombozytenaggregation, die aber sofort wieder verschwindet, wobei jedoch einige Thrombozyten irreversibel aggregiert bleiben können. Dafür wird eine heparininduzierte ADP-Freisetzung verantwortlich gemacht. Die Gemeinsamkeit jeder Thrombozytenaggregation liegt in der ADP-Freisetzung aus den Thrombozyten selbst und ist abhängig von der Anwesenheit von freiem Ca^{++} . Bei niedrigeren Temperaturen als 33°C tritt eine Aggregation der Thrombozyten durch ADP-Freisetzung weniger häufig auf. Da ADP auch

durch Adrenalin freigesetzt wird, wurde besonders darauf geachtet, bei der Blutentnahme bzw. durch das Waschen der Zellen mit physiologischer NaCl-Lösung den Adrenalineinfluß möglichst gering zu halten. Da bei den durchgeführten Versuchen Thrombozytenaggregate im Frühjahr gehäuft auftraten, muß auch an eine erhöhte Thrombozytenfragilität - exogen bedingt - gedacht werden. Ähnliche Einflüsse exogener Art auf den Kreislauf des Hundes im Frühling sind bekannt.

Komplement wird, wie schon erwähnt, bei längerer Normothermie inaktiv. Zudem sind bestimmte Faktoren des Komplementsystems hitze-labil. Bei 30-minütigem Erwärmen des Serums im 56°C warmen Wasserbad werden die Faktoren C_{1q} , C_{1r} , C_{1s} , C_2 , C_5 , C_8 und C_9 zerstört (44). Durch diese "Zerhackung" der Sequenz der Komplementfaktoren gehen neben der Fähigkeit zur Vermittlung der Zytolyse fast alle komplementabhängigen Wirkungen des Serums zugrunde. Die Hitzeinaktivierung wurde in diesen Versuchen wegen ihrer einfachen Durchführbarkeit und Standardisierbarkeit der chemischen Inaktivierung vorgezogen. Ob jedoch nach der Hitzeinaktivierung durch das Intaktbleiben der Komplementfaktoren C_4 , C_3 , C_6 und C_7 nicht eine Funktion des C'-Systems erhalten bleibt (z.B. Spaltung von C_3 und C_{3a} -Bildung), ist nicht bekannt.

Dieses inaktivierte Serum vom Hund sollte durch Zugabe von Rattenserum seine volle Komplementaktivität wiedererlangen. Rattenserum wurde verwendet, weil es a) keine präformierten Antikörper gegen das Spenderorgan (Ratte) hat und b) so gut wie keine Agglutinine gegen Empfängerzellen (Hund) hat (40). Mögliche Präzipitate eventueller Reaktionen zwischen Rattenserumbestandteilen und solchen des Hundeserums, die nie gesehen wurden, wurden durch Inkubation und Ultrazentrifugation ausgeschlossen. Obwohl stärkere, standardisierte Komplementsysteme auf dem Markt erhältlich sind, wurde das schwächere Komplementsystem des Rattenserums verwendet. Ein weiteres xenogenes System z.B. in Form des Meerschweinchenkomplements neben dem Ratte-Hund-System sollte in unserem Modell vermieden werden.

Präformierte Antikörper spielen bei der HXAR eine entscheidende Rolle (81). A.SCHILLING konnte jedoch bei Perfusion von Rattenernieren mit peripheren Hundeblutzellen und einer alpha-2-Globulin-

fraktion vom Hund eine verzögerte HXAR beobachten, obwohl in dieser alpha-2-Globulinfraction keine präformierten Antikörper nachweisbar waren. Zudem konnte in dieser Serumfraktion keine hämolytische Aktivität beobachtet werden, da die Komplementkomponenten bei der elektrophoretischen Trennung in verschiedenen Fraktionen wandern. Außerdem war das Serum, bedingt durch die Methodik, zu langer Normothermie ausgesetzt (94), was einer Hitzedekomplementierung entspricht. Diese Befunde lassen auf ein nicht immunologisches Prinzip schließen, das parallel zur spezifischen, immunologischen Reaktion bei der HXAR beteiligt sein müßte. Es sollte nun untersucht werden, wie sich Rattennieren bei xenogener Perfusion mit Hundeseren verhalten, die keine präformierten Antikörper aber Komplement enthalten. Dazu boten sich zwei Möglichkeiten an: die Perfusion der Rattennieren mit Perfusaten, die sich aus Empfängerzellen und Empfängerseren, die gegen Spendergewebe absorbiert worden waren, sowie aktivem Rattenkomplement zusammengesetzten und die Perfusion mit Empfängerblut Neugeborener Hunde. Jungtiere und Säuglinge zeigen, wenn überhaupt, nur niedrige Titer präformierter Antikörper (11, 40, 42).

HINGERLE und HAMMER untersuchten die Entwicklung von präformierten Antikörpern in ca. 20 Species und zeigten, daß meßbare Titer präformierter Antikörper im Hundeserum erst nach dem 10. bis 15. Lebenstag auftreten. Das Immunsystem der Hunde ist vor diesem Zeitpunkt ontogenetisch prämatür (13, 21).

Die Zugehörigkeit der präformierten Antikörper zu einer bestimmten Globulinklasse ist nicht gesichert. Man vermutet sie in der IgM-Fraktion. IgM-Antikörper sind nicht plazentagängig und auch in der Kolostralmilch von Hunden nicht nachweisbar. Tatsächlich fanden sich bei serologischer Untersuchung im Blut Neugeborener Hunde in allen 8 Fällen keine komplementbindenden Antikörper, die Xenohämagglutinine zeigten nur einmal einen geringen Titer von 1:2 gegen Rattenerythrozyten. Die verwendeten Neugeborenen Hunde waren zwischen 6 und 9 Tagen alt.

Bei der Absorption der Hundeseren gegen die Rattennierenzellsuspension fiel der Titer komplementbindender Antikörper auf null, jedoch wurden auch die Xenohämagglutinine dabei fast gänzlich absorbiert und zwar von 1:256 auf 1:2. Dies dürfte darauf zurückzu-

führen sein, daß die Nieren, die später als Antigen verwendet wurden, nicht vom Rattenblut leerperfundiert worden waren. In früheren Versuchen war eine Absorption von Hämagglutininen bei der Xenoperfusion ebenfalls beobachtet worden. Eine organzerstörende Wirkung kommt den Xenohämagglutininen dabei wahrscheinlich nicht zu. Die Konzentration präformierter Xenohämagglutinine bei der Empfängerspecies dürfte lediglich als Indikator einer existierenden "across-species"-Immunität gewertet werden und nicht unbedingt einen Maßstab für die zu erwartende Heftigkeit der HXAR bei der Transplantation des entsprechenden xenogenen Organs darstellen (50).

Aus den erhaltenen Befunden, daß Komplement auch ohne präformierte Antikörper für das Sistieren der Nierendurchblutung verantwortlich zu machen ist, kommt der Frage der Aktivierungsmöglichkeiten des Komplementsystems, abgesehen von der Antigen-Antikörper-Reaktion, eine ganz entscheidende Bedeutung zu. Daß dies durch alleinige Zugabe von aRS zum Perfusat geschieht, erscheint unwahrscheinlich. Eine Reaktion zwischen Hundeerythrozyten und Hämolytinen des aRS konnte nicht nachgewiesen werden. Eine Hämolyse trat bei Inkubation nicht auf. Wäre die Komplementaktivierung durch die oben angeführte Reaktion bedingt, müßte die Nierendurchblutung bei Perfusion mit HZ+Gelifundol+aRS rasch zum Erliegen kommen. Im Gegenteil lag das Perfusionsvolumen aber zu Beginn signifikant höher als bei RV und lag nach 60 min noch bei 3 ml/g x min. Zur Aktivierung des Komplementsystems ist in unserem Versuchssystem das Empfänger serum - auch ohne Antikörper - absolut notwendig.

Frühere Absorptionsversuche mißglückten, da es zur Schädigung der Antigenzellen kam. Dies zwang zu einer experimentellen Änderung des Absorptionsvorgangs. Die Freisetzung intrazytoplasmatischer Substanzen aus den Antigenzellen wurde durch Fixieren der Antigenzellen mit 2,5%iger Glutaraldehydlösung verhindert. Daß diese Manipulation an den Zellen die Seren nicht so weit veränderte, daß eine Abstoßung "vorgetäuscht" wurde, konnte durch die Perfusion der Rattennieren mit RV+"abs.RS" gezeigt werden. Möglicherweise werden bei der Absorption trotz vorsichtiger Präparation des Perfusats doch Spuren zytoplasmatischer Substanzen freigesetzt. Bei Perfusion mit HZ+abs.HSg.RN+iRS ist V_p zu Beginn (10. bis 20. min)

signifikant gegenüber HZ+iHS+iRS erniedrigt, erreicht aber dann nach einem steilen Anstieg ein V_p von 3,5 ml/g x min. Trotzdem muß aber die ursächliche Wirkung, die zum Sistieren der Durchblutung führt, dem Komplementsystem zugeschrieben werden.

4.1.3) Besprechung der Reproduzierbarkeit der HXAR in vitro und der Abstoßungskriterien:

Die Probleme der HXAR in vitro und deren Reproduzierbarkeit in vitro wurden bereits ausführlich diskutiert (48, 51). Es muß unterschieden werden zwischen einem perfusionsbedingten Einfluß, der Ausdruck im Verhalten der allogenen RV-Perfusion findet und dem Verlauf der xenogenen Perfusion mit HV. Erst die Differenz zwischen den gemessenen Parametern bei der Perfusion mit RV und HV spiegelt bei standardisierter Methodik den Einfluß der HXAR wider.

Innerhalb weniger Minuten sinken bei Xenoperfusion die Perfusionsvolumina unter einen kritischen Minimalwert. Nach Beendigung der Perfusion erscheinen die Nieren gestaut, cyanotisch dunkelblaurot verfärbt, im Längsschnitt werden hämorrhagische Veränderungen besonders im Markbereich sichtbar. Histologisch werden Endothelnekrosen in den Glomeruli, Arterien und Arteriolen Mesangiumnekrosen, Thrombozytenaggregate und Fibrinablagerungen beobachtet. Diese Veränderungen werden auch in vivo gesehen. Die renale In-vitro-Xenoperfusion im verwendeten Modell ist deshalb in der Lage, die hyperakute In-vivo-Abstoßung von Rattennieren am Hund symptomatisch wiederzugeben.

Nicht in Betracht gezogen werden als Abstoßungskriterien Zeichen des Funktionsverlustes wegen der kurzen Laufzeiten bei xenogener Perfusion, und weil auch hyperakut abgestoßene Nieren in vivo nicht zu funktionieren beginnen. Eine augenscheinliche Funktionsfähigkeit der Niere bei xenogener Vollblutperfusion wurde nicht beobachtet, der Urinfluß kam nie in Gang. Die Gewichtszunahme bei Vergleich von allogener und xenogener Perfusion scheint eher eine Funktion der Perfusionsdauer und des onkotischen Drucks des Perfusats, denn abstoßungsbedingt zu sein. Einziges verlässliches Abstoßungskriterium ist demnach im vorliegenden Versuchsmodell, wie bereits von A.SCHILLING diskutiert, das Verhalten des Perfusionsvolumen, das bei der HXAR entscheidend und typisch verändert wird.

Methodisch bedingte Einflüsse auf allogene und xenogene Perfusion sind gleich: Das Ausgangsvolumen wird beeinflusst durch intraoperative Irritierung der Organe (Ausbildung von Stauungsbezirken bei mechanischer Reizung), anoxische, ischämische und hypotherme Reize. Während der Hauptperfusion wird V_p durch Funktionsverlust, zunehmenden Gewebsdruck, Ödeme (Gewichtszunahme bei kontinuierlicher Perfusion), perfusionsbedingte Freisetzung von Thromben aus Plasmalipoiden (7, 8), Thrombozytenaggregation und vasoaktive Substanzen beeinträchtigt. Diese Faktoren finden ihren Ausdruck darin, daß für V_p in vitro nur 50% der In-vivo-Durchblutungswerte der Niere gefunden wurden (108).

Über diese Einflüsse hinaus sind weitere Abnahmen von V_p stets abstoßungsbedingt. Weitere verlässliche Kriterien für das Vorliegen einer HXAR in diesem Modell sind bei Anwesenheit von präformierten Antikörpern im Perfusat die morphologischen Veränderungen bei xenogener Perfusion (9, 82).

4.2) Diskussion der Ergebnisse:

4.2.1) Besprechung des zeitlichen Verlaufs des Perfusionsvolumens:

Bei Hauptperfusionsbeginn lagen die Durchblutungswerte der Versuchskollektive zwischen $3,56 \pm 0,1$ ml/g x min und $4,68 \pm 0,4$ ml/g x min. Wie schon von MARCEAU beschrieben (63) fällt V_p in den einzelnen Versuchsgruppen auf Werte von $1,98 \pm 0,3$ für RV bis $0,42 \pm 0$ ml/g x min bei xenogener Perfusion ab. Der Durchblutungsabfall zu Beginn der Hauptperfusion wird unter anderem durch die rasche Viskositätszunahme verursacht, wenn die noch in der Niere befindliche Ringerlösung durch das Hämoperfusat ausgewaschen wird. Bei der Perfusion mit RV kommt als weiterer wichtiger Faktor hinzu, daß beim Entbluten der Ratten zur Gewinnung des Perfusats ein großer Stimulus zur Adrenalinsekretion auf das Nebennierenmark ausgeübt wird. Durch Adrenalin kommt es zu einer reversiblen Vaskokonstriktion, die DE MARIA et al. (20) besonders an einer Zone proximal der ersten großen Bifurkation der Nierenarterie nach Adrenalininjektion beobachteten. Dagegen bedeuteten die im Verhältnis zum gesamten zirkulierenden Blutvolumen geringen Blutmengen bei Entnahme am Hund keinen derartigen Reiz zur Adrenalinfreisetzung. Weitere Abfälle von V_p wie z.B. bei Perfusion mit HV wurden

bisher größtenteils auf immunologische Reaktionen zurückgeführt.

Mit der Perfusion mit RV sollte eine Bezugsbasis geschaffen werden, die alle nicht abstoßungsbedingten Einflüsse integriert. Bei der allogenen Perfusion mit RV+"abs.RS" dagegen sollte der Einfluß eventueller Verunreinigungen im absorbierten Serum, bedingt durch die Fixierung der Rattennierenzellsuspension mit der Glutaraldehydlösung, auf das Perfusionsvolumen geprüft und mit der analogen xenogenen und der allogenen Perfusion mit RV verglichen werden.

Mit RV und RV+"abs.RS" steigt V_p nach 5 min wieder an. Dabei wird die Nierenstrombahn durch die Auswaschvorgänge zunehmend geöffnet. Die Durchschnittswerte von V_p bei RV+"abs.RS" blieben gegenüber RV etwas, jedoch nie signifikant ($p < 0,01$), zurück. Dies könnte als Einfluß des Glutaraldehyds bei der Fixierung interpretiert werden, muß aber auch mit dem bei RV+"abs.RS" mit $3,5 \pm 0,1$ gegenüber $4,26 \pm 0,3$ ml/g x min bei RV verminderten Ausgangsperfusionsvolumen im Zusammenhang gesehen werden. Diese Werte wurden nach 60-minütiger Perfusion, wie von NIZET et al. beschrieben (78), wieder erreicht.

Bei der Perfusion mit HV zeigt sich die schnelle Abstoßung, wie bereits erwähnt, in der zu gleicher Zeit gemessenen Differenz der Perfusionsvolumina von RV und HV. Bei HV ist V_p bereits nach 5 min signifikant ($p < 0,01$) gegenüber dem bei RV vermindert. Hier addieren sich perfusionsbedingte und immunologische Ursachen. Als solche werden diskutiert: Antigen-Antikörper-Reaktionen zwischen antigenen Endothelstrukturen und präformierten Antikörpern im Empfängerblut, mit der dadurch bedingten Komplementaktivierung und Ausbildung einer C_3 -Immunadhärenz an Thrombozyten und Leukozyten. Die Freisetzung biogener Amine führt dabei zur Thrombozytenaggregation und Lyse der Leukozyten (37, 38, 39), sowie zur Vasokonstriktion. Schließlich kommt es durch die Lyse der Endothelzellen mit vorausgegangenen Kernpyknosen und nachfolgenden Endothelnekrosen zu intravasaler Gerinnung mit Fibrinablagerungen und zum dadurch bedingten völligen Verschuß der Nierenendstrombahn. Die Vermittlerfunktion des Komplementsystems bei diesen Vorgängen deutete schon MOZES an (75), der bei xenogener Perfusion von Schweinenieren mit Hundeblut im venösen Efflux bereits nach 2 - 4 min eine gegenüber

dem arteriellen Einstrom um 60% geringere Komplementaktivität feststellte. PIELSTICKER und ALDENHOFF fanden bereits nach einminütiger xenogener Perfusion von Rattennieren mit Hundeblut erste histologische Anzeichen einer beginnenden HXAR. Die Beteiligung der komplementbindenden Antikörper und des Komplementsystems als primäre Mechanismen, die zum Abfall von V_p führen, gilt als gesichert. Sekundäre Mechanismen, die zum völligen Erliegen der renaln Durchblutung führen, wie Thrombozytenaggregation, Endothelnekrose, Fibrinablagerungen und Immunadhärenz sind beteiligt, aber ihre Ursachen noch nicht im Zusammenhang aufgeklärt.

Bei der Perfusion mit HZ+iHS wurde das Verhalten von V_p mit xenogenem Perfusat ohne funktionierendem Komplementsystem geprüft, V_p fällt in den ersten 5 min auf 0,72 ml/g x min, steigt aber dann wieder rasch an. V_p unterscheidet sich von Beginn an signifikant ($p < 0,01$) von V_p bei xenogener Perfusion mit HV. Dagegen besteht auch gegenüber RV Signifikanz ($p < 0,01$) bis zur 10. min bezüglich V_p . Der verzögerte Anstieg von V_p ist möglicherweise durch das Unterschreiten der funktionellen Perfusion nach 4,4 - 9,6 min bedingt. Nach einstündiger Perfusion liegt V_p wieder weit im funktionellen Bereich (2,72 ml/g x min). Dieser Befund zeigt ganz deutlich die Notwendigkeit eines intakten Komplementsystems für das Auftreten einer HXAR bei xenogener Perfusion am untersuchten Modell. MOZES et al. (76) beobachteten bei Perfusion von Schweinenieren mit Hundezellen und hitzedekomplementiertem Hundeserum eine verlängerte Überlebenszeit der perfundierten Organe. SNYDER et al. konnten nach Injektion von Kobragift in Hunde eine 13mal längere Überlebenszeit von Schweinenieren finden (100). Dabei blockiert Kobragift isoliert den Komplementfaktor C_3 . Dieser letzte Befund schließt neben der klassischen Komplementaktivierung bei der HXAR eine By-pass-Aktivierung nicht aus, da diese ebenfalls über den Faktor C_3 läuft. Eine Aktivierung jenseits von C_3 , mit einem auf die HXAR wirkenden Einfluß, dürfte demnach nicht stattfinden. Das Perfusionsvolumen bei Perfusion mit HZ+iHS+aRS verhielt sich wie V_p bei Perfusion mit HV. Hier müßte eine Komplementaktivierung stattgefunden haben, da bei Zugabe von hitzeinaktiviertem Rattenserum (= iRS) statt frischem Rattenserum (= aRS) eine HXAR nicht beobachtet wurde. Zwischen den Perfusionsvolumina von HZ+iHS und

HZ+iHS+iRS fand sich keine Signifikanz ($p < 0,01$). Ein für die HXAR durch Zugabe des Rattenserums verursachter unspezifischer Reiz kann ausgeschlossen werden. Da im iHS bei der Perfusion zusammen mit peripheren Blutzellen und aRS komplementbindende Antikörper nachweisbar waren, dürften diese als komplementaktivierende Faktoren mitbeteiligt gewesen sein. Durch die Möglichkeit, einem zuvor inaktivierten Hundeserum durch Zugabe von Rattenkomplement die Fähigkeit der Komplementaktivierung zurückzugeben, war die Voraussetzung für die folgenden Versuche geschaffen. Dort sollte eine isolierte Beteiligung des Komplementsystems ohne präformierte Antikörper, die zuvor aus einem hitzeinaktivierten Hundeserum absorbiert werden mußten, am Geschehen der HXAR untersucht werden.

Wurden die Rattennieren mit HZ+abs.HSg.RE+aRS perfundiert, so verhielt sich die zeitliche Verlaufsform von V_p nahezu wie die bei Perfusion mit HV. Eine Signifikanz ($p < 0,01$) wurde nicht gefunden gegenüber dem V_p bei Perfusion mit HV. Diese Versuche zeigen, daß eine ursächliche Beteiligung der Xenohämagglutinine bei der HXAR am untersuchten Modell ausgeschlossen werden kann. Der bei der Perfusion von Spenderorganen beobachtete Abfall der Xenohämagglutinine im Empfängerblut ist, wie schon erwähnt, eher Ausdruck einer bestehenden "across-species"-Immunität zwischen Spender und Empfänger, denn ein kausaler Faktor im Mechanismus der HXAR. Da sich im Perfusat noch komplementbindende Antikörper gegen Rattennierenzellen befanden (1:4), könnte die initiale Komplementaktivierung teilweise auf eine spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion zurückzuführen sein.

Der Verlauf der Perfusion mit HZ+abs.HSg.RN+iRS zeigt, daß bei der Absorption des Hundeserums gegen die Rattennierenzellsuspension keine besondere Schädigung der Antigenzellen im Sinne einer Freisetzung zytoplasmatischer, vasoaktiver Substanzen stattgefunden hat. In früheren Versuchen wurde dadurch stets durch raschen Abfall des Perfusionsvolumens eine HXAR vorgetäuscht. Die bezüglich V_p fehlende Signifikanz ($p < 0,01$) bei Vergleich der Versuchsgruppen von HZ+iHS+iRS und HZ+abs.HSg.RN+iRS zeigt die Vorzüge der angewandten Absorptionsmethode mit Verwendung der Glutaraldehydlösung. Möglicherweise wird Komplement aber auch durch unspezifische

Antigen-Antikörperkomplexe aktiviert, die unspezifisch und nur zu einem geringen Prozentsatz zur Aktivierung führen können.

Bei Perfusion mit HZ+abs.HSg.RN+aRS verhält sich V_p im zeitlichen Verlauf fast analog wie bei Perfusion mit HV. Wie bereits erwähnt, wurden bei der Absorption des Hundeserums gegen die Rattennierenzellsuspension die Xenohämagglutinine ebenfalls fast vollständig absorbiert (von 1:256 auf 1:2). Trotz Fehlens (fast) aller präformierten Antikörper (soweit mit den üblichen Testmethoden nachweisbar), kommt es zu einem komplementabhängigen Sistieren der Nierendurchblutung, das bei gleichem Perfusat mit iRS statt aRS nicht auftrat. Da auch eine unspezifische Aktivierung des Komplementsystems durch Xenohämagglutinin-Antigen-Komplexe kaum in Frage kommt, muß bei der HXAR im untersuchten Perfusionsmodell eine neue Möglichkeit der Komplementaktivierung gefordert werden.

Die Unterschiede von V_p zwischen den Perfusionsgruppen mit HZ+abs.HSg.RN+aRS und HZ+abs.HSg.RN+iRS als Perfusaten zeigen, daß der für das Sistieren der Durchblutung verantwortliche Faktor im aktivierten Komplementsystem zu suchen ist. JENSEN und Mitarbeiter fanden, daß Anaphylatoxin (= C_{3a} und C_{5a}), bestehend aus Spaltprodukten der dritten und fünften Komplementkomponente, eine Hauptrolle bei der Abstoßung der isolierten Niere spielt, da es im renalen Gefäßsystem eine erhebliche Vasokonstriktion mit Vasospasmen verursacht (46).

Mit dem Verhalten der Perfusionsvolumina bei Perfusion mit Neugeb. HV wurden die oben diskutierten Befunde erhärtet. Es fand sich keine Signifikanz ($p < 0,01$) der Perfusionsvolumina zwischen HV und Neugeb.HV. Bei einem bereits voll entwickelten Komplementsystem (90) aber ohne meßbare präformierte Antikörper im Perfusat wurde eine ebenso heftige HXAR wie bei der Perfusion mit HV beobachtet. Diese Ergebnisse bei der Perfusion der Rattennieren mit Neugeb.HV erhärten die Vermutung, daß Komplement auch auf einem anderen Weg als dem klassischen, durch Antigen-Antikörper-Reaktion induzierten, bei der HXAR aktiviert wird. Der Befund von SNYDER et al., wonach bei Blockierung von C_3 eine HXAR nicht auftritt, sondern eine 13mal längere Überlebenszeit xenogener Organe nachgewiesen werden konnte, läßt als Alternative zur klassischen Aktivierung an C_1 nur noch die By-pass-Aktivierung von C_3 als möglich erscheinen (92).

Die zentrale Rolle des Komplementsystems spielt nach dem heutigen Stand der Komplementforschung das Serumprotein C_3 . Dieses kann enzymatisch als auch auf klassischem Weg gespalten werden. Erst die Spaltung von C_3 führt zu den vasokonstriktorisch wirkenden Komponenten C_{3a} und C_{5a} (durch nachfolgende Spaltung von C_5 durch C_{3b}). Eine schematische Darstellung der verschiedenen Wege, die zur Spaltung von C_3 führen, zeigt Abbildung 12. Anaphylatoxin, bestehend aus den Spaltprodukten C_{3a} und C_{5a} , bewirkt die Freisetzung von Histamin und die Kontraktion glatter Muskulatur. Durch gesteigerte Vasopermeabilität kommt es zur lokalen Ödembildung und nachfolgenden generalisierten Vasospasmen. Zudem lockt Anaphylatoxin Leukozyten, insbesondere polymorphkernige Granulozyten an. Auf diese Weise ließe sich die Vermehrung polymorphkerniger Granulozyten als ein Entzündungselement der zellulären Infiltration in den Glomeruli abgestoßener Nieren erklären (31).

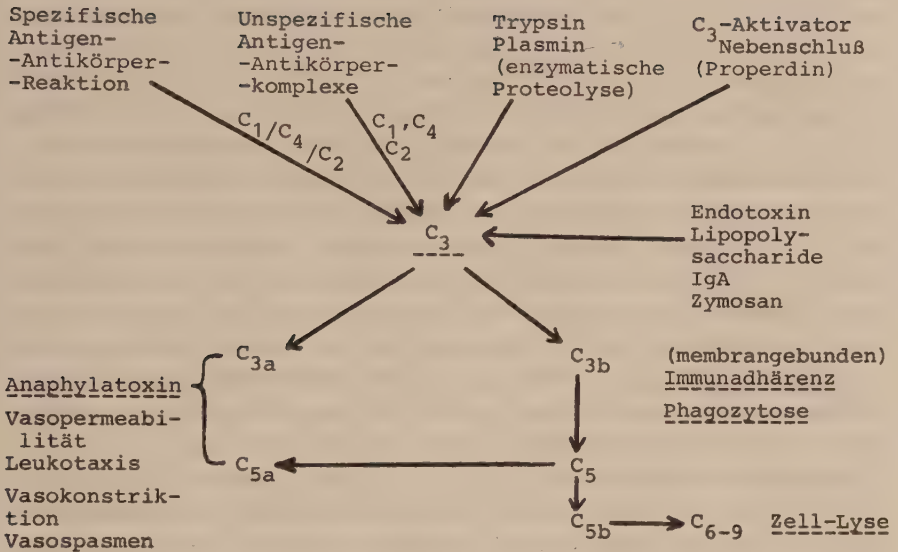


Abb. 13: Aktivierungsmöglichkeiten des Komplementsystems und dessen Leistungen.

4.2.2) Verhalten des Nierengewichts:

In den durchgeführten Versuchen konnte die oft als Abstoßungskriterium betrachtete Gewichtszunahme des Spenderorgans nicht zur Beurteilung über das Vorliegen einer HXAR herangezogen werden. Zwischen V_p und der Zunahme des Gewichts der perfundierten Niere wurde keine Korrelation festgestellt. Pulsatile Perfusion verursacht nach NIZET (78) bereits nach dreistündiger Perfusion mit autologem, nicht diluierten Blut eine 20%ige Gewichtszunahme. Es dürfte sich hierbei um eine bei der Perfusion stets auftretende Schädigung mit Ausbildung von Ödemen handeln. Die in den durchgeführten Versuchen

beobachteten Gewichtszunahmen dürften ihre Ursache vor allem im fehlenden kolloidosmotischen Druck der Ringerlösung bei der Vorperfusion haben. ALDENHOFF fand schon nach 15-minütiger Perfusion der Rattenniere eine Gewichtszunahme um 50%. Die in diesem Modell nahezu kontinuierliche Perfusion muß zusätzlich als Ursache einer Gewichtszunahme angesehen werden. In den durchgeführten Versuchen lagen die Gewichtszunahmen zwischen Durchschnittswerten von 14,7 und 41,5% für die verschiedenen Versuchsgruppen. Da Gewichtszunahmen noch größeren Ausmaßes bereits nach der Vorperfusion mit Ringerlösung auftraten, außerdem frühere Versuche (2) mit diluierten Perfusaten Gewichtszunahmen bis zu 66% erbrachten, wird deutlich, daß die geringeren Gewichtszunahmen auf den nahezu physiologischen kolloidosmotischen Druck des verwendeten Hämoperfusates zurückzuführen sind. Darüber hinaus konnte für jene Versuche, bei denen über 1 Stunde hämoperfundierte wurde, im Vergleich zu den nur kurz perfundierten Rattennieren eine leicht höhere Gewichtszunahme registriert werden. Möglicherweise handelt es sich um eine durch die Perfusion bedingte Schädigung, die nach NIZET zunehmend auftritt, und die zusammen mit den oben angeführten Ursachen die abstoßungsbedingte Gewichtszunahme überlagert.

4.2.3) Verhalten der Urinproduktion:

In der Vorperfusion wird eine isotone Polyurie beobachtet. Die Polyurie bei isolierter Perfusion ist neben dem Fehlen des kolloidosmotischen Drucks bei der Vorperfusion auf das fehlende antidiuretische Hormon (ADH) zurückzuführen. Ödeme verschlechtern zudem die Konzentrierung des Harns. Eine Korrelation zwischen Perfusionsvolumina und Urinproduktion wurde immer gefunden: alle Versuche, die nach wenigen Minuten zum Sistieren der Organdurchblutung führten, zeigten keine Urinproduktion mehr. Eine schnelle Umverteilung der Nierendurchblutung zugunsten des Markbereiches mit abnehmendem osmotischen Gradienten könnte nach RETIK et al. hierfür verantwortlich sein (89). Das makroskopische Aussehen der Nieren nach Sistieren der Durchblutung mit Hämorrhagie im Mark und anämisch wirkender Rinde ist ein Hinweis für die Minderdurchblutung der Rinde mit nachfolgendem Abfall des Glomerulusfiltrates und Anurie. Die allogene Perfusion der Rattennieren mit RV, sowie jene Versuche mit einstündiger Perfusion, zeigten die beschriebene Polyurie mit

deutlicher Korrelation zu V_p . Das Verhalten der produzierten Urinmengen könnte somit als Maß einer HXAR im vorliegenden Modell angesehen werden.

4.2.4) Korrelation zwischen dem zeitlichen Verlauf der Perfusionsvolumina und den pathologischen Befunden.

Eine Korrelation zwischen V_p und den histologischen Befunden der hyperakut abgestoßenen Nieren liegt nur bei der Perfusion mit HV vor. Endothelpyknoten sind immer, Nekrosen des Endothels nach frühestens 10 min zu beobachten. Thrombozytenaggregate und Fibrinmikrothromben in allen arteriellen Gefäßen, IgG und Komplement am Glomerulusendothel sind weitere typische Zeichen einer antikörperabhängigen, abgelaufenen HXAR. Diese Korrelation ist, wenn überhaupt, dann nur noch schwach bei der Perfusion mit Neugeb.HV nachweisbar, da präformierte Antikörper gegen die Ratte nicht meßbar waren. Vereinzelte Endothelkernpyknoten und Endothelläsionen in den histologischen Präparaten könnten aber trotzdem auf das - wenn auch mit den üblichen Testmethoden nicht meßbare - Vorhandensein von wenigen präformierten Antikörpern hinweisen. Fehlt Komplement im Perfusat, so finden sich selbst nach einstündiger Perfusion, trotz Anwesenheit von präformierten Antikörpern im Perfusat, keine Endothelveränderungen in den perfundierten Rattennieren. Diese beiden letzten Befunde zeigen, daß für das Auftreten von Endothelnekrosen und Endothelläsionen das Zusammenspiel von präformierten Antikörpern - insbesondere von komplementbindenden Antikörpern - und Komplement erforderlich ist.

Dagegen fehlt eine Korrelation zwischen V_p und den histologischen Befunden bei allen Versuchen mit absorbierten Seren bei Anwesenheit von Komplement. Ohne präformierte Antikörper aber mit Komplement kommt es zwar zu einem Sistieren der Durchblutung, die typischen Endothelveränderungen fehlen aber völlig: ein Beweis dafür, daß bei der Absorption tatsächlich alle präformierten Antikörper absorbiert worden sind. Das Fehlen morphologisch faßbarer Veränderungen trotz Abstoßung (= Sistieren der Organdurchblutung) ist nur ein scheinbarer Widerspruch zu den Befunden bei der Perfusion mit HV.

Da die HXAR ohne präformierte Antikörper aber mit Komplement ebenso heftig abläuft wie mit HV, muß für beide Reaktionen ein gemein-

sames Prinzip gefordert werden, das zum Sistieren der Durchblutung führt. Dieses Prinzip dürfte im Komplementsystem seine Ursache haben, und seine Wirkung muß die klassische antikörperabhängige Organzerstörung in ihrer Heftigkeit weit übertreffen. JENSEN und Mitarbeiter (46) interpretieren diesen schnellen Abfall der Durchblutung durch Vasospasmen bedingt durch Anaphylatoxin. Zudem erscheint in den durchgeführten Versuchen mit HV ein Sistieren der renalen Durchblutung innerhalb von 10 bis 20 min, nur durch antikörperabhängige Organzerstörung bedingt, als unwahrscheinlich, da morphologisch die Veränderungen zu diesem Zeitpunkt noch nicht stark ausgeprägt sind. Diese Vasospasmen sind histologisch und morphologisch jedoch bei der angewandten Methode nicht faßbar (83).

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß eine HXAR im getesteten System auch ohne direkte Mitwirkung von präformierten Antikörpern ablaufen kann, da bei der Perfusion der Rattennieren mit antikörperfreiem Hundeblut ebenfalls eine HXAR beobachtet wird. Ebenfalls zeigt sich, daß die Wirkung von aktivem Komplement absolut notwendig ist. Die Beobachtungen lassen vermuten, daß das schnelle Sistieren der Organdurchblutung bei der HXAR weit mehr eine Funktion einer unspezifischen, nichtimmunologischen Komplementaktivierung, denn Folge einer antikörperabhängigen Organzerstörung ist. CORRELL (19) fand bereits in seinen Versuchen, daß eine ein-Korrelation zwischen der Heftigkeit der HXAR und dem Grad der präexistierenden Across-species-Immunität nicht besteht. Trotz hoher Antikörpertiter im Menschenblut gegen Rattengewebe bzw. Rattenerozyten trat innerhalb einer zweistündigen Perfusionszeit keine HXAR auf, wenn die Rattennieren mit Menschenblut perfundiert wurden. CALNE (15) wies auf eine mögliche Bedeutung inadäquater Enzymsysteme im Spender-Empfänger-System hin, wonach die xenogene Abstoßung im entfernt stammesverwandten System abgesehen von einer Antigen-Antikörper-Reaktion auf einer biochemischen Inkompatibilität beruhen könnte. Diesem Diskussionsbeitrag kommt insofern größere Bedeutung zu, da eine enzymatische Aktivierung des Komplementsystems durch Proteolyse neuerdings nachgewiesen werden konnte (31, 44, 92).

4.3) Der Mechanismus der HXAR unter besonderer Berücksichtigung des Komplementsystems.

Bei der Transplantation im nahe verwandten Spender-Empfänger-System trifft das xenogene Spenderorgan auf einen vorher nicht sensibilisierten Empfängerorganismus. Die große Anzahl fremder, stark antigen wirkender Substanzen führt in wenigen Tagen durch Antigen-erkennung durch thymusabhängige, antigensensible Zellen zur Proliferation und Ausdifferenzierung knochenmarksabhängiger antikörperbildender Zellen (14). Dieser, der allogenen Abstoßung analoge, aber rascher ablaufende Mechanismus führt zur Entstehung von sensibilisierten Lymphozyten und humoralen Antikörpern, welche das xenogene Organ zerstören.

Bei der Transplantation im entfernt verwandten Spender-Empfänger-System trifft das xenogene Spenderorgan dagegen auf einen bereits "sensibilisierten" Empfängerorganismus. Diese präexistierende "Sensibilisierung" hat ihre Ursache im Zirkulieren präformierter Antikörper (Xenohämagglutinine, Xenoleukagglutinine, xenogene komplementbindende Antikörper) im Empfängerorganismus gegen Spendergewebe (34). Über das Entstehen dieser präformierten Immunität besteht keine Klarheit. Diskutiert werden diese präformierten Antikörper a) als kreuzreagierende Antikörper, die durch die laufende Auseinandersetzung des Empfängerindividuums mit Mikroorganismen der Umwelt entstanden sind, b) als Antikörper, die nach Persorption antigen wirksamer Substanzen gebildet wurden und c) als genetisch fixierte, speciesspezifische Antikörper. Darüber hinaus wird die Beteiligung spezifischer, präformierter Zellen (= natürliche Lymphozyten) in der Initialphase der HXAR diskutiert. Dafür fand sich jedoch an unserem Modell kein eindeutiger Anhaltspunkt da bei Perfusion mit leukozytenfreiem Perfusat keine Verzögerung der HXAR beobachtet wurde. Dieser Befund schließt aber eine Beteiligung spezifischer, präformierter Zellen nicht aus, da wie bereits diskutiert, auch das Vorhandensein oder Fehlen von präformierten Antikörpern auf die Heftigkeit (= Schnelligkeit) der HXAR keinen Einfluß zu haben scheint, sondern durch ein weitaus wirksameres vasoaktives Prinzip überspielt wird.

Bei der HXAR im entfernt stammesverwandten Spender-Empfänger-System kommt es durch die Antigen-Antikörper-Reaktion zwischen den

antigenen Strukturen des Nierengefäßendothels und den präformierten komplementbindenden Antikörpern im Empfängerkreislauf zu einer Aktivierung des Komplementsystems am C_1 -Komplex (C_{1q} , C_{1r} , C_{1s}). Bereits durch den aktivierten Antigen-Antikörper- C_{1q} -Komplex wird der Hageman-Faktor im Empfängerserum aktiviert, wodurch die Reaktionsbereitschaft des Gerinnungssystems, wie auch des fibrinolytischen Systems erhöht und die Genese der Kinine durch Umwandlung des Prekallikreins in Kallikrein beschleunigt wird (4). Diese Hageman-Faktor abhängigen Reaktionen werden jedoch durch einen C_{1q} -Inaktivator gehemmt. Inwieweit die Wirkung dieses Inaktivators bei der HXAR entkoppelt wird, ist nicht bekannt (33). Die geringeren Fibrinniederschläge in den mit xenogenen Perfusaten mit absorbierten Seren perfundierten Rattennieren lassen möglicherweise auch auf eine nichtklassische Aktivierung des Komplementsystems schließen, da die Erhöhung der Gerinnungsbereitschaft durch Umgehung der Hageman-Faktor-Aktivierung nicht besteht. Nach AUSTEN kann der aktive Hageman-Faktor die Antigen-Antikörper- C_{1q} -Komplexbildung zwar verstärken, führt jedoch bevorzugt zu Gerinnung als zu Phagozytose und Lyse (4). Die so frühe Verknüpfung des Komplementsystems mit dem Gerinnungssystem könnte im Zusammenhang mit dem Phänomen der Immunadhärenz eine Erklärung dafür sein, daß Fibrinablagerungen bereits vor dem Auftreten von Endothelläsionen (C_9 -abhängig) beobachtet werden. Die Rigorosität der HXAR wird auch durch den Kaskadenmechanismus der beiden Systeme deutlich. Die Fähigkeit des Antigen-Antikörper- C_{1q} -Komplexes, den Hageman-Faktor zu aktivieren, dürfte in der dem Kollagen nahezu identischen Struktur des aktivierten C_{1q} ihre Ursache haben.

Über C_4 und C_2 führt die klassische antikörperabhängige Komplementaktivierung zur Spaltung von C_3 dem wichtigsten Faktor des Komplementsystems. Eine Folge der C_3 -Spaltung ist die bei der HXAR beobachtete Immunadhärenz von Thrombozyten und Leukozyten am membrangebundenen Spaltprodukt C_{3b} (37, 38, 39). Jede mit C_{3b} beladene Struktur wird dabei bevorzugt durch Makrophagen phagozytiert. W.LAND macht die Freisetzung pharmakologischer Mediatorsubstanzen aus den durch Immunadhärenz zerstörten Empfängerzellen (Thrombozyten und Leukozyten) für den schnellen Durchblutungsabfall des xenogenen Organs verantwortlich. Er stützt sich dabei auf Befunde, die eine Blutdrucksteigerung beim Hund nach intravenöser Gabe von

Urin zeigten, der von einer xenogen mit Hundeblut perfundierten Schweineniere produziert wurde (52).

Das zentrale pathophysiologische Problem der HXAR stellt der sofortige Anstieg des Strömungswiderstands dar. Zu den oben bereits erwähnten Mediatorsubstanzen muß hier noch das vasokonstriktorisch wirkende Anaphylatoxin (C_{3a} und C_{5a}) angefügt werden, das JENSEN und Mitarbeiter (46) für die Hauptursache des raschen Durchblutungsabfall bei der HXAR halten und auch in den durchgeführten Versuchen mit antikörperfreien Perfusaten mit Komplement die Ursache des Abfalls von V_p sein dürfte (85). Die komplementabhängige Thrombozytenzerstörung durch Immunadhärenz setzt den Plättchenfaktor III frei, der mit dem durch Endothelläsion und anaphylatoxinbedingte Permeabilitätserhöhung freiwerdenden Gewebsthromboplastin die Gerinnung aktiviert. Dadurch verursacht das bereits durch den aktiven Hageman-Faktor in seiner Reaktionsbereitschaft gesteigerte Gerinnungssystem zusammen mit einer intravasalen Thrombose (Plättchenaggregation und Leukozytenagglutination) möglicherweise den Anstieg des Strömungswiderstands bei der HXAR mit. Die Freisetzung vasoaktiver Mediatorsubstanzen dürfte dabei erst die Ursache einer erst sekundär beteiligten Aktivierung des Gerinnungssystems sein.

Nach den erhaltenen Befunden muß die Hauptursache des raschen V_p -Abfalls mehr auf einer intravasalen Gerinnung (76, 91, 103) und einer Vasokonstriktion bzw. einem Vasospasmus beruhen, wobei letzterer wahrscheinlich durch Anaphylatoxin verursacht wird.

In den Versuchen mit HZ+absorbierten Seren und Komplement wird dies besonders deutlich, da bei der wahrscheinlich vorliegenden By-pass-Aktivierung des Komplementsystems keine morphologisch erkennbaren Endothelläsionen und nur geringgradige Thrombozytenaggregate beobachtet wurden, die Fibrinablagerungen außerdem deutlich weniger ausgeprägt waren, als nach Perfusion mit antikörperhaltigem Vollblut. Trotzdem ist die Abstoßung ebenso heftig. Durch die permeabilitätssteigernde Wirkung des Anaphylatoxins könnten intrazytoplasmatische Substanzen aus den Endothelzellen in das Perfusat gelangen und sich dort auf die Durchblutung auswirken.

Die bei der HXAR im venösen Efflux nur noch 30% gegenüber dem arteriellen Einstrom beobachteten polymorphkernigen Granulozyten (18) dürften durch die Entzündungsvermittlung durch anaphyla-

toxische und leukotaktische Fragmente einzelner Komponenten des Komplementsystems - besonders C_{3a} und C_{5a} - bedingt sein. Neben der klassischen Komplementaktivierung muß nach unseren Befunden eine By-pass-Aktivierung des Komplementsystems bei der HXAR eine nicht geringe Rolle spielen. Schon bei Vollblutperfusion wird ein weit größerer Verlust an hämolytischer Aktivität beobachtet, als er den in der Niere absorbierten xenogenen, komplementbindenden präformierten Antikörpern entspricht (33).

Eine hypothetische, jedoch oft diskutierte Möglichkeit der Aktivierung des Komplementsystems bei der HXAR ist die enzymatische Proteolyse von C_3 . Durch Unverträglichkeit der Enzymsysteme von Spender und Empfänger könnte lokal im Spenderorgan eine Enzymaktivierung mit nachfolgender C_3 -Spaltung ablaufen. Ferner sind bakterielle Endotoxine und Lipopolysaccharide gramnegativer Bakterien in der Lage, C_3 zu aktivieren (26, 60), was bei den durchgeführten Versuchen jedoch keine Rolle gespielt haben dürfte, wie die fehlende Abstoßung bei der Perfusion einer Rattenniere mit HZ-Gelifundol+aRS zeigt. Im Zusammenspiel mit dem Properdin (104), dem Faktor D und dem C_3 -Proaktivator können sowohl Endotoxin, Insulin, Dextran, Zymosan und auch Polyanionen C_3 aktivieren. Zu den Auslösern dieser Nebenschlußaktivierung gehören auch die bisher nicht als komplementbindend bekannten Antikörper vom Typ IgA. Es ließ sich zeigen, daß die Fc-Anteile dieser Antikörperklasse zwar kein C_1 binden, daß die Fab-Anteile aber in der Lage waren, unter Einbeziehung der Kofaktoren des Nebenschlusses eine C_3 -Aktivierung zu bewerkstelligen (31). Eine Beteiligung des einen oder anderen Faktors bei der HXAR könnten erst genauere biochemisch analytische Untersuchungen beweisen. Der Beweis einer Nebenschlußaktivierung ließe sich erst durch proteinchemische Analyse des venösen Effluxes und des arteriellen Einstroms der Serumspiegel von Properdin, C_3 , Faktor D und C_4 erbringen. Erst die verschiedenen hohen Spiegel dieser Faktoren würden eine exakte Aussage über die Art der Komplementaktivierung bei der HXAR zulassen (45, 54).

Nach den Befunden A.SCHILLINGS (94, 95, 97) dürfte zudem ein weiteres nichtimmunologisches Prinzip bei der HXAR beteiligt sein. Eine in der alpha-2-Globulinfraction der Kartonelektrophorese wandernde Substanz wirkt auf die isoliert xenoperfundierte Rattenniere abstoßungsbeschleunigend. Möglicherweise ist diese Substanz

ein Enzym, das durch das xenogene Organ "irritiert" das Komplementsystem aktiviert. Nach all diesen Befunden dürfte aber der Hauptfaktor bei der HXAR ein vasoaktives Prinzip sein (9), in dessen Mittelpunkt die Wirkung des Komplementsystems steht (46, 58, 74). Die Wirkung der Obstruktion der Gefäße durch Endothelzerstörung darf nicht länger als Hauptursache für das rasche Sistieren der Durchblutung bei der HXAR angesehen werden.

Möglicherweise wird auf der Stufe der C_3 -Aktivierung durch Rückkopplung die C_3 -Spaltung verstärkt (92). Die Freisetzung von proteolytischen Enzymen nach Immunadhärenz von C_{3b} an Leukozyten (39) könnte zusätzlich einen Verstärkermechanismus der enzymatischen C_3 -Spaltung darstellen. Das Verhalten der Inhibitoren einzelner Komplementkomponenten (28) ist noch völlig ungeklärt.

In zukünftigen Arbeiten könnten durch Messung der C_3 - und C_4 -Spiegel im Empfängerserum vor und nach der xenogenen Nierenpassage Aufschlüsse über die Art der Komplementaktivierung bei der HXAR gefunden werden. Ebenso könnten Empfänger-Spender-Systeme so gewählt werden, daß bei definierten erblichen Fehlern im Komplementsystem des Empfängers Rückschlüsse auf die Wirkung des Komplementsystems bei der HXAR möglich wären. Außerdem bietet das vorliegende Versuchsmodell die Möglichkeit, bestimmte Komplementfaktoren durch Verwendung spezifischer Inhibitoren bei der HXAR zu blockieren.

4.4) Möglichkeiten zur Verlängerung der Überlebenszeit xenogener Organtransplantate im entfernt verwandten Spender-Empfänger-System

Im Anschluß des Versuchs einer Deutung des Mechanismus der HXAR sollen noch kurz Möglichkeiten besprochen werden, die zu einer Verlängerung der Überlebenszeit xenogener Organtransplantate führen. Im entfernt stammesverwandten Spender-Empfängersystem scheiden die üblichen Methoden der Immunsuppression aus, da zelluläre Mechanismen der Immunität bei der HXAR nicht beteiligt sind. Die Bedeutung des Komplementsystems bei der HXAR kann durch Ausschaltung desselben an unserem Modell durch ein Ausbleiben der HXAR bei xenogener Hämoperfusion gezeigt werden. Alle Maßnahmen, die zu einer Suppression des Komplementsystems führen, sind geeignet, die HXAR zu verzögern bzw. zu unterdrücken. Die Wirkung des Hepa-

rins die Überlebenszeit xenogener Organe zu verlängern, wird auf die komplementhemmende Wirkung des Heparins zurückgeführt (62, 66), die des Aspirins ist auf die Verhinderung der Freisetzung von ADP aus Thrombozyten zurückzuführen, was eine Aggregation derselben verhindert, die HXAR aber nur unwesentlich verzögert (62). SNYDER et al. (100) beobachteten ein Ausbleiben der explosiven Abstoßung von Schweinenieren nach Injektion von Kobragift zur isolierten Blockierung von C_3 im Empfängerorganismus (Hund). Auch MOZES und Mitarbeiter konnten bei Perfusion von Schweinenieren mit Hundeblutzellen und hitzedekomplementiertem Hundeserum eine Verlängerung der Überlebenszeit der Spendernieren nachweisen. LINN et al. (59) untersuchten die HXAR von Schweinenieren nach Suppression der präformierten Antikörpern in den Empfängerhunden. Diese Suppression wurde durch Aufeinanderfolge mehrerer Nierentransplantationen, als auch durch intravenöse Gabe von Schweinegewebe erreicht. Dadurch konnten die Überlebenszeiten danach transplantierte Nieren bis zu zwanzigmal gegenüber denen bei unbehandelten Empfängerhunden verlängert werden. Da bei der Vorbehandlung der Empfängertiere eine Komplementverarmung in den Hunden stattfand, stehen diese Befunde nicht in Widerspruch zu den Ergebnissen dieser Arbeit.

MOBERG et al. (74) fanden, daß die gleichzeitige Antikörperabsorption und Komplementinaktivierung die wirkungsvollste Methode sei, die HXAR zu verzögern bzw. zu unterdrücken. Nach MOBERG wird durch Inaktivierung des Komplementsystems die vasoaktive Komponente der Abstoßung beseitigt und eine mäßige Verlängerung der Überlebenszeit des Xenotransplantats erreicht. Dagegen fanden MOBERG und Mitarbeiter keine Verzögerung der HXAR nach Fibrinogenausschaltung, ein Beweis dafür, daß das Gerinnungssystem nur sekundär in die HXAR verwickelt ist. Darüber hinaus soll eine Verlängerung der Transplantatsüberlebenszeit durch eine vorausgehende Perfusion des Spenderorgans mit xenogenen Ribonucleinsäuren beobachtet worden sein (47).

Biologisches Enhancement ist eine weitere Möglichkeit, die HXAR zu verzögern, jedoch nicht völlig auszuschließen (93). Dabei wird die Immunantwort am efferenten Schenkel blockiert. HAMMER und LAND et al. konnten durch aktiv und passiv erzeugtes Enhancement, durch Vorbehandlung des Empfängers mit Spendergewebsantigenen bzw.

durch Injektion von Hyperimmunseren erzielt, eine bis zu sechzehnmal längere Überlebenszeit von Schweinenieren in Hunden beobachten (35, 49).

L.FIEDLER et al. konnten nach isovolämischer Hämodilution der Empfängertiere mit 6%iger Dextran-60-Lösung bis zu HK-Werten von 7,5 eine signifikant längere Überlebenszeit der Spendernieren vom Schwein am Hund zeigen (25). Der Nachteil dieser Methode liegt allerdings darin, daß nach Ende der Hämodilution über die Lymphe humorale und zelluläre Faktoren wieder in die Blutbahn einströmen. Durch Kombination von Lymphdrainage und Hämodilution konnte daraufhin im Vergleich zu alleiniger Hämodilution die Überlebenszeit von Schweinenieren im Hund weiter verlängert werden (53). Weitere Untersuchungen zeigten bei kombinierter Anwendung von Hämodilution und Lymphdrainage, sowie Perfusion der Spenderniere mit Heparin, Procain, Trispuffer und Bicarbonat in Makrodex (5% Dextran 40) die größte Überlebenszeit (36, 73), selbst größer als bei Vorbehandlung des Empfängers mit löslichen Spendergewebsantigen.

Diese Versuche zeigen, daß eine völlige Ausschaltung von präformierten Antikörpern und Komplement in vivo zwar nicht möglich ist, daß aber durch kombinierte Anwendung von Hämodilution und Lymphdrainage die Spiegel an Antikörpern, Komplement, gamma-Globulin und immunkompetenten Zellen so niedrig gehalten werden können, daß eine HXAR erst sehr verzögert auftritt. Vielleicht sollte es bei besserer Kenntnis des Mechanismus der HXAR und nach Verbesserung des obengenannten Versuchsprogrammes, bei komplettem xenogenen Blutaustausch unter immunsuppressiver Therapie möglich sein, eine echte Funktionstüchtigkeit eines xenogenen Organs von einem der Empfängerspecies entfernt stammesverwandten Spendertier zu erreichen.

5) ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit sollte die Beteiligung des Komplementsystems bei der HXAR in Abhängigkeit von präformierten Antikörpern im Empfängerkreislauf im entfernt stammesverwandten Spender-Empfänger-System untersucht werden. Als wichtigste Befunde im angewandten Versuchsmodell sollen noch einmal festgehalten werden:

- 1) Eine HXAR kann nur bei einem intakten, aktivierbaren Komplementsystem des Empfängertieres ablaufen.
- 2) Eine HXAR kann auch ohne präformierte Antikörper ablaufen, wenn Komplement im Empfänger aktivierbar ist. Diese Beobachtung läßt vermuten, daß bei der HXAR eine unspezifische, nicht-immunologische Komplementaktivierung - ohne Beteiligung von präformierten Xenoantikörpern - beteiligt ist.
- 3) Zur Aktivierung des Komplementsystems ist die Mitwirkung des Empfängerserum, speziell eines vielleicht darin enthaltenen Faktors (z.B. eines Enzyms), absolut notwendig.
- 4) Morphologisch faßbare Endothelläsionen am Spenderorgan sind an das Vorhandensein von präformierten Antikörpern (komplementbindende Xenoantikörper) im Empfängerserum gebunden.
- 5) Das zentrale pathophysiologische Phänomen der HXAR, nämlich die rasche Abnahme der Durchblutung des xenogenen Organs, dürfte zuvorderst eine Komplementwirkung sein, die wahrscheinlich durch die vasokonstriktorische und vasospastische Wirkung des Anaphlatoxins bedingt ist und nur zu einem geringen Prozentsatz durch obstruktive, morphologisch faßbare Vorgänge verursacht wird.
- 6) Der nicht vollständig aufgeklärte, äußerst komplexe Mechanismus der HXAR dürfte eine xenogene Transplantation im entfernt stammesverwandten Spender-Empfänger-Speciessystem in naher Zukunft kaum gelingen lassen.

6) LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ALBERT, J.-P.,
WEISSBACH, L.,
HÜNERMANN, B.,
MORAKIS, A.:
Tierexperimentelle Untersuchungen zum
Problem der nuclearmedizinischen Beur-
teilung des Schädigungsgrades hypo-
therm perfusionskonservierter Nieren
Res. exp. Med. 161, 153 (1973)
- 2 ALDENHOFF, J.:
Inaug.Dissertation, München 1974
- 3 ALLERDYCE, D.B.,
YOSHIDA, S.H.,
ASHMORE, P.C.:
The importance of microembolism in the
pathogenesis of organ dysfunction
caused by prolonged use of the pump
oxygenator
J.Thor.Cardiov.Surg. 52, 706 (1966)
- 4 AUSTEN, K.F.:
Hageman-Factor-dependent Coagulation,
Fibrinolysis, and Kinin Generation
Transpl.Proc. VI, 39 (1974)
- 5 AVRAMEAS, S.,
TANDON, B.,
CHNILON, S.:
Glutaraldehyde, Cyanuric Chloride and
Tetraazotized O-Dianisidine as Coupling
Reagents in the Passive Hemagglutina-
tion Test
Immunochemistry 6, 67 (1969)
- 6 BAYLISS, W.M.:
On the local reactions of the arterial
wall to changes of internal pressure
J.Physiol.(Lond.) 28, 220 (1902)
- 7 BELZER, F.O.,
PARK, H.Y.,
VETTO, R.M.:
Factors influencing renal blood flow
during isolated perfusion
Surg. Forum 15, 222 (1964)
- 8 BELZER, F.O.,
ASHBY, B.S.,
MAY, R.E.,
DUNPHY, J.E.
Isolated perfusion of whole organs in:
Organ Perfusion and Preservation edited
by: J.C.Norman, Appleton-Century-Crofts,
New York, S.3 (1963)
- 9 BOHLE, A.,
EDEL, H.,
PICHLMAIER, H.
Über die Beziehungen von Strukturen und
Funktionen bei der akuten, perakuten
und chronischen Abstoßung von Nieren-
transplantaten in: Organtransplantation-
- Immunologie und Klinik
Hrsg.: A.Heymer, D.Ricken, Stuttgart,
New York (Schattauer Verlag) S. 89
(1969)
- 10 BRAYLEY, S.:
The silicones as tools in biological
engineering
Med.Electron Biol.Eng.3, 127 (1965)
- 11 BRAMBELL, F.W.R.:
The passive immunity of the young
mammal.
Biol.Rev. 33, 488 (1958)

- 12 BRENDEL,W.: Modern trends in experimental organ transplantation
Europ.Surg.Res. 3, III (1971)
- 13 BRENDEL,W.,
HECK,L.,
CHAUSSY,Ch.,
HAMMER,C.,
SCHEDER,D.,
BONENGEL,H.: Bedeutung präformierter natürlicher
Antikörper für die Überlebenszeiten
und Möglichkeiten xenogener Organtrans-
plantate
3.Tagung der Gesellschaft für Immunolo-
gie Marburg 11.-13. Oktober 1971
- 14 BRENDEL,W.: Transplantation und Immunologie
Arch.klin.exp. Ohr.-,Nas.-und Kehlkopf-
Heilk. 196, 39 (1970)
- 15 CALNE,R.C.: Organ transplantation between widely
disparate species
Transpl. Proc. II, 550 (1970)
- 16 CARREL,A.: La technique opératoire des anastomoses
vasculaires et la transplantation des
viscères
Lyon méd. 98, 859 (1902)
- 17 CHAVEZ-PEON,F.,
MONCHIK,G.,
WINN,H.J.,
RUSSEL,P.S.: Humoral factors in experimental renal
allograft and xenograft rejection
Transpl.Proc. III, 573 (1971)
- 18 CLARK,S.,
GEWURZ,H.,
GOOD,R.,
VARCO,R.: Complement fixation during heterograft
rejection
Surg.Forum 15, 144 (1966)
- 19 CORRELL,J.: Inaug.Dissertation, München im Druck
- 20 DeMARIA,W.J.A.,
KRUEGER,R.P.,
HAWKINS,D.M.,
SANDERS,A.P.,
BAYLIN,G.P.: Renal artery response to epinephrine
Proc.Soc.Exper.Biol.Med. 114, 588
(1963)
- 21 DENNIS,R.A.,
JACOBY,R.O.,
GRIESEMER,R.A.: Development of immunity in fetal dogs:
skin allograft rejection
Am.J.Vet.Res. 30, 1511 (1969)
- 22 EIKA,C.: Platelet refractory state induced by
heparin
Scand.J.Haemat. 9, 665 (1972)
- 23 ENDERLIN,F.: in Lehrbuch der Chirurgie M.Allgöwer
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-
New York, 1973 S. 487
- 24 EULITZ,M.: persönliche Mitteilung

- 25 FIEDLER, L.,
HAMMER, C.,
MESSMER, K.,
LAND, W.,
HOLPER, K.,
KLÖVEKORN, W.,
PIELSTICKER, K.,
CHAUSSE, CH.,
BRENDDEL, W.: Experimentelle Xenotransplantation in entfernt stammesverwandten Speciessystemen: Beeinflussung der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion von Nieren vom Schwein (Spender) durch extreme isovolämische Hämodilution von Hunden (Empfänger)
Res.exp.Med. 163, 137 (1974)
- 26 FINE, D.P.: Activation of the classic and alternate complement pathways by endotoxin
J.Immunol. 112, 763 (1974)
- 27 FRITSCH, H.,
ONDERKA, M.,
ZIMMERMANN, R.,
BARTH, P.: Kontaktfaktor induzierte experimentelle Thrombose
Res.exp.Med. 161, 141 (1973)
- 28 GIGLI, I.: Control mechanisms of the classical and alternate complement sequences
Transpl.Proc. VI, 9 (1974)
- 29 GRABAR, P.,
BURTIN, P.: Immunelektrophoretische Analyse
Elsevier Publishing Company
Amsterdam-London-Paris 1964
S. 88 bzw. S. 44
- 30 GRUNDMANN, R.,
MEUSEL, E.,
RAAB, M.,
KIRCHHOFF, R.,
PICHLMAIER, H.: Untersuchungen über den optimalen Perforationsdruck, den renalen Widerstand und den Sauerstoffverbrauch der Niere bei hypothermer pulsierender Perfusion
Langenbecks Arch.Chir.Suppl.Chir.Forum 1975, S. 115
- 31 HADDING, U.,
BITTER-SUERMAN, D.: Das Komplementsystem und seine Funktion
Deutsches Ärzteblatt 71, 932 (1974)
- 32 HAMMER, C.,
CHAUSSEY, CH.,
KREBS, G.,
SCHEEL, V.J.,
BRENDDEL, W.: Experimental xenogeneic kidney transplantation in closely related species: E vivo hemoperfusion of kidney in the system cat (donor) to dog (recipient)
Res.exp.Med. 160, 32 (1973)
- 33 HAMMER, C.: Inaug.Dissertation München 1972
- 34 HAMMER, C.,
CHAUSSEY, CH.,
BRENDDEL, W.: Preformed natural antibodies: outlook on xenotransplantation
Europ.Surg.Res. 5, 162 (1973)
- 35 HAMMER, C.:
LAND, W.,
BRENDDEL, W.: Experimentelle Xenotransplantation in entfernt stammesverwandten Speciessystemen: Zum Mechanismus der xenogenen hyperakuten Abstoßungsreaktion und deren Modifizierung unter dem Einfluß von aktiv und passiv erzeugtem Enhancement
Res.exp.Med. 159, 239 (1973)

- 36 HAMMER,C.,
FIEDLER,L.,
KLÖVEKORN,W.,
LAND,W.,
MESSMER,K.,
BRENDDEL,W.:
Mitigation of the hyperacute xenogeneic rejection of kidneys in widely divergent species
Europ.Surg.Res., 2, 112 (1970)
- 37 HENSON,P.M.:
Mechanisms of release of constituents from rabbit platelets by antigen-antibody complexes and complement:
I. lytic and nonlytic reactions
J.Immunol. 105, 476 (1970)
- 38 HENSON,P.M.:
Mechanisms of release of constituents from rabbit platelets by antigen-antibody complexes and complement:
II. interaction of platelets with neutrophils
J.Immunol. 105, 490 (1970)
- 39 HENSON,P.M.:
Complement-dependent platelet and polymorphnuclear leukocyte reactions
Transpl.Proc. VI, 27 (1974)
- 40 HINGERLE,M.:
Inaug.Dissertation München 1974
- 41 HINSHAW,L.B.,
WORTHERN,D.M.:
Role of intrarenal venous pressure in the regulation of renal vascular resistance
Circulat.Res. 9, 1156 (1961)
- 42 HITZIG,W.H.:
Die physiologische Entwicklung der Immunglobuline
Helv.Pediatr.Acta. 12, 596 (1956)
- 43 HOLLENBERG,M.,
PRUETT,R.,
THAL,A.:
Vasoactive substances liberated by prolonged bubble oxygenation
J.Thor.Cardiov.Surg. 45, 402 (1963)
- 44 HUMPHRIE,J.H.,
WHITE,R.G.:
Lehrbuch der Immunologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971, S. 121
- 45 HUNSICKER,L.G.:
Abnormalities of the complement system in acquired renal disease
Transpl.Proc. VI, 77 (1974)
- 46 JENSEN,J.A.,
DAVIES,D.,
LINN,B.S.,
SNYDERMAN,R.,
FRANKLIN,L.:
Complement mediated vasoconstriction and graft rejection
Circulat.Res. 30, 332 (1972)

- 47 KÖHL,W.,
SOLLINGER,H.W.,
SEIFERT,J.,
SEINFELD,H.;
BRENDL,W.:
Untersuchungen über die Aufnahme xeno-
gener Ribonucleinsäuren in extrakorpo-
ral perfundierte Rattennieren
Res.exp.Med. 157, 193 (1972)
- 48 LAND,W.,
MENDLER,N.,
LIEBE,v.S.
PIELSTICKER,K.,
MESSMER,K.:
Experimentelle Xenotransplantation in
entfernt stammesverwandten Species-
systemen: I. In-vitro-Hämoperfusion iso-
lierter Nieren als Modell zur Untersu-
chung von Abstoßungsmechanismen xeno-
gener Organtransplantate
Klin.Wschr. 49, 164 (1971)
- 49 LAND,W.,
HAMMER,C.,
FIEDLER,L.,
BRENDL,W.:
Experimentelle Xenotransplantation in ent-
fernt stammesverwandten Species-
systemen; Beeinflussung der hyperakuten
xenogenen Abstoßungsreaktion durch Vorbe-
handlung von Hunden (Empfänger) mit lös-
lichen Lebergewebsantigen vom Schwein
(Spender)
Res.exp.Med. 158, 1 (1972)
- 50 LAND,W.,
CORRELL,J.,
PIELSTICKER,K.,
BRENDL,W.:
Renale In-vitro-Xenohaemoperfusion in
verschiedenen Specieskombinationen
Res.exp.Med. 159, 276 (1973)
- 51 LAND,W.,
SCHILLING,A.,
ALDENHOFF,J.,
BRENDL,W.:
Probleme der xenogenen Haemoperfusion
in entfernt stammesverwandten Species-
systemen
Langenbecks Arch.Chir. 329, 974 (1971)
- 52 LAND,W.:
Xenogene Organtransplantation
Chirurg 42, 172 (1971)
- 53 LAND,W.,
BRENDL,W.,
HAMMER,C.,
HOLPER,K.,
KLÖVEKORN,W.,
LOG,G.,
MERZEL, D.,
MESSMER,K.,
SEIFERT,J.,
SUNDER-PLASSMANN,L.:
Modifikation der hyperakuten xenogenen
Abstoßungsreaktion
Res.exp.Med. 157, 259 (1972)
- 54 LEBER,P.D.,
McCLUSKEY,R.T.:
Complement and the immunohistology of
renal disease
Transpl.Proc. VI, 67 (1974)
- 55 LIEBE,v.S.:
Inaug.Dissertation München 1974

- 56 LEICHTWEISS, H.P.,
SCHRÖDER, H.,
WEISS, C.: Die Beziehung zwischen Perfusionsdruck
und Perfusionsstromstärke an der mit
Parafinöl perfundierten isolierten
Rattenniere
Pflügers Archiv 293, 303 (1967)
- 57 LEICHTWEISS, H.P.,
WEISS, C.: Untersuchungen über den Mechanismus
der Autoregulation der Nierendurch-
blutung
Bruns' Beiträge zur klin.Chirurgie
214, 100 (1967)
- 58 LINN, B.S.,
JENSEN, J.A.,
PARDO, V.,
DARIES, D.,
FRANKLIN, L.: Relationship between structural and
functional changes in rejecting renal
xenograft
Transpl.Proc. III, 527 (1971)
- 59 LINN, B.S.,
JENSEN, J.A.,
PORTAL, P.,
SNYDER, G.B.: Renal xenograft prolongation by
suppression of natural antibody
J.Surg.Res. 8, 211 (1968)
- 60 LOOS, M.,
BITTER-SUERMANN, D.,
DIERICH, M.: Interaction of the first (C₁) second
(C₂) and the fourth (C₄) component of
complement with different preparations
of bacterial lipopolysaccharides and
with lipid A
J.Immunol. 112, 935 (1974)
- 61 MACDONALD, A.S.,
BELL, W.R.,
BUSCH, G.J.,
GHOSE, T.,
CHAN, C.C.,
FALVEY, C.F.,
MERRILL, J.P.: A comparison of hyperacute canine
renal allograft and sheep-to-dog xeno-
graft rejection
Transplantation 13, 146 (1972)
- 62 MACDONALD, A.S.,
BUSCH, G.J.,
ALEXANDER, J.L.,
PHETEPLACE, E.A.,
MENZOIAN, J.,
MURRAY, J.E.: Heparin and aspirin in the treatment
of hyperacute rejection of renal allo-
grafts in presensitized dogs
Transplantation 9, 1 (1970)
- 63 MARCEAU, J.P.,
HALLENBECK, G.A.,
ZOLLMAN, P.E.,
BUTLER, H.C.,
SHORTER, R.G.: A comparison of autoplasmic, allogeneic
and xenogeneic perfusion of isolated
kidneys
J.Surg.Res. 5, 492 (1965)
- 64 MARX, G.H.: A capillary membrane-oxygenator
utilizing gas dispersed in oil
Trans.Amer.Soc.Artif.Int.Organs XVI,
381 (1970)

- 65 MARX,G.H.: Inaug.Dissertation München 1969
- 66 MARX,R.,
BAYERLE,H.,
SKIBBE,I.: Über ein Komplement und Prothrombin mit besonderer Berücksichtigung der Antithrombotika 3,3-methylen-di-(4-Oxycumarin) und Heparin Arch.exp.Pathol. und Pharmakologie 206 (1948)
- 67 MARX,R.: persönliche Mitteilung
- 68 MARX,T.I.,
SNYDER,W.E.,
ST.JOHN,A.D.,
MOELLER,C.E.: Diffusion of oxygen into a film of blood j.Appl.Physiol. 15, 1123 (1960)
- 69 MEDAWAR,P.B.; Behaviour and fate of skin autograft and skin homografts in rabbits J.Anat. 78, 176 (1944)
- 70 MEDAWAR,P.B.: Second study of behaviour and fate of skin homografts in rabbits J.Anat. 79, 157 (1945)
- 71 MENDLER,N.,
WEISSHAAR,E.,
BRENDEL,W.: Eine Herz-Lungen-Maschine für Ratten als experimentelles Modell der extra-korporalen Zirkulation Thoraxchirurgie 17, 534 (1969)
- 72 MESSMER,K.,
SCHMIDT-MENDE,M.: Die Kältevasoconstriction der Nierengefäße Zeitschr.ges.exp.Med. 139, 468 (1965)
- 73 MESSMER,K.,
HAMMER,C.,
LAND,W.,
FIEDLER,L.,
KLÖVEKORN,W.P.,
HOLPER,K.,
LOB,G.,
MERZEL,D.,
BRENDEL,W.: Modification of hyperacute xenogeneic rejection Transpl.Proc. III, 542 (1971)
- 74 MOBERG,A.W.,
SHONS,A.R.,
GEWURZ,H.,
MOZES,M.,
NAJARIAN,J.S.: Prolongation of renal xenografts by simultaneous sequestration of preformed antibody, inhibition of complement, coagulation and antibody synthesis Transpl.Proc. III, 538 (1971)

- 75 MOZES, M.F.,
GEWURZ, H.,
GUNARSON, A.,
MOBERG, A.W.,
WESTBERG, N.G.,
JETZER, T.,
NAJARIAN, J.S.:
Xenograft rejection by dog and man:
Isolated kidney perfusion with blood
and plasma
Transpl.Proc. III, 531 (1971)
- 76 MYBURGH, J.A.,
COHEN, I.,
GECELTER, L.,
MEYERS, A.M.,
ABRAHAMS, C.,
FURMAN, K.I.,
GOLDBERG, B.,
BLERK, v.P.J.P.:
Hyperacute rejection in human kidney
allografts, Shwartzman or Arthus reac-
tion?
New Eng.J.Med. 281, 131 (1969)
- 77 NAKAYAMA, K.,
TAMIYA, K.,
YAMAMOTO, K.,
IZUMI, T.,
AKIMOTO, S.,
HASHIZUME, S.,
JIMOMI, T.,
ODAKA, M.,
YAZAWA, C.:
High-amplitude pulsatile pump in extra-
corporate circulation with particular
reference to hemodynamics
Surgery 54, 798 (1963)
- 78 NIZET, A.,
CYPERS, Y.,
DEETJEN, P.,
KRAMER, K.:
Functional capacity of the isolated
perfused kidney
Pflügers Arch. 296, 179 (1967)
- 79 PAQUET, K.J.,
DIETMANN, K.,
KREUTZBERG, B.,
DOHMEN, M.,
BERNHARD, A.:
Experimenteller Beitrag zur Frage der
kontinuierlichen und pulsatorischen
Perfusion
Langenbecks Arch.klin.Chir. 304, 735
(1963)
- 80 PERPER, R.J.,
NAJARIAN, J.S.:
Experimental renal heterotransplanta-
tion:
II. Closely related species
Transplantation 4, 700 (1966)
- 81 PERPER, R.J.,
NAJARIAN, J.S.:
Experimental renal heterotransplanta-
tion:
I. In widely divergent species
Transplantation 4, 377 (1966)
- 82 PIELSTICKER, K.,
SCHILLING, A.,
ALDENHOFF, J.,
LAND, W.:
Untersuchungen zur perakuten Abstoßung
xenotransplantierte Nieren
Verh.Dtsch.Ges.Path. 55, 645 (1971)

- 83 PIELSTICKER,K.: persönliche Mitteilung
- 84 PRATSCHKE,E.,
SCHILLING,A.: unveröffentlichte Untersuchungen 1974
- 85 PRATSCHKE,E.,
LAND,W.,
SCHILLING,A.,
PIELSTICKER,K.,
BRENDL,W.: Weitere In-vitro-Studien zum Mechanismus der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion (HXAR)
Langenbecks Arch.Chir.Forum 1975, S. 129
- 86 REEMTSMA,K.M.C.,
CRACKEN,B.H.,
SCHLEGEL,J.U.,
PEARL,M.A.,
DeWITT,C.W.,
SCHMITH,P.E.,
HEWITT,R.L.,
FLINNER,R.L.,
CREECH,O.: Renal heterotransplantation in man
Ann.Surg. 160, 384 (1964)
- 87 REEMTSMA,K.M.C.: Heterotransplantation
Transpl.Proc. I, 251 (1969)
- 88 REEMTSMA,K.M.C.: Renal heterotransplantation from non-human primates to man
Ann.New York Academy of Sciences 162, 412 (1969)
- 89 RETIK,A.B.,
HOLLENBERG,N.K.,
ROSEN,S.M.,
MERRIL,J.P.,
MURRAY,J.E.: Cortical ischemia in renal allograft rejection
Surg.Gyn.& Obst. 124, 989 (1967)
- 90 ROSEN,F.S.: Complement: ontogeny and phylogeny
Transpl.Proc. VI, 47 (1974)
- 91 ROSENBERG,J.C.,
BROERSMA,R.J.,
BULLEMER,G.,
MAMMEN,E.F.,
LENAGHAN,R.,
ROSENBERG,B.F.: Relationship of platelets, blood coagulation and fibrinolysis to hyperacute rejection of renal xenografts
Transplantation 8, 152 (1969)
- 92 RUDDY,S.: Chemistry and biologic activity of the complement system
Transpl.Proc.VI,I (1974)
- 93 RUSSEL,P.S.: Immunological enhancement
Transpl.Proc. III, 960 (1971)
- 94 SCHILLING,A.: Inaug.Dissertation München 1972

- 95 SCHILLING,A.,
LAMERZ,R.,
LAND,W.,
BRENDDEL,W.: Weitere Untersuchungen am Modell der renalen In-vitro-Xenohaemoperfusion: Humorale Serumfaktoren bei der hyperakuten Abstoßungsreaktion (HXAR) Res.exp.Med. 157, 255 (1972)
- 96 SCHILLING,A.,
PRATSCHKE,E.: unveröffentlichte Untersuchungen 1973
- 97 SCHILLING,A.,
LAND,W.,
PIELSTICKER,K.,
ALDENHOFF,J.,
BRENDDEL,W.: Experimentelle Xenotransplantation in entfernt stammesverwandten Speciessystemen: Interaktion humoraler Faktoren bei der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion (HXAR) Res.exp.Med. 165, 79 (1975)
- 98 SIXMA,J.J.: Methods for platelet aggregation Adv.exp.Med.Biol.34, 79 (1972)
- 99 SLAPAK,M.: Current methods in organ preservation Transpl.Proc. III, 1547 (1971)
- 100 SNYDER,G.B.,
BALLESTEROS,E.,
ZARCO,R.M.,
LINN,B.S.: Prolongation of renal xenograft by complement suppression Surg.Forum 17, 478 (1966)
- 101 SPAET,T.H.,
ZUCKER,M.B.: Mechanism of platelet plug formation and role of adenosine diphosphate Amer.J.Physiol. 206, 1267 (1964)
- 102 STARZL,T.E.,
MARCHIORO,T.L.,
PETERS,G.N.,
KIRKPATRICK,C.N.,
WILSO,W.E.C.,
PORTER,K.A.,
RIFKIND,D.,
ODGEN,D.A.,
HITCHCOCK,C.R.,
WADELL,W.R.: Renal heterotransplantation from baboon to man: experience with 6 cases Transplantation 2, 752 (1964)
- 103 STARZL,T.E.,
LERNER,R.A.,
DIXON,F.J.,
GROTH,C.G.,
BRETTSCHEIDER,L.,
TERASAKI,P.J.: Schwartzman reaction after human renal heterotransplantation New Eng.J.Med. 278, 642 (1968)
- 104 STITZEL,A.E.,
SPITZER,R.E.: The utilization of properdin in the alternate pathway of complement activation: Isolation of Properdin Converstase J.Immunol. 112, 56 (1974)

- 105 THURAU,K.: Renal hemodynamics
Am.J.Med. 36, 698 (1964)
- 106 ULLMANN,E.: Experimentelle Nierentransplantation,
vorläufige Mitteilung
Wiener klin.Wschr. 15, 281 (1902)
- 107 WELLS,R., Influence of a defoaming agent upon
STELLANBYGDEMAN,M., the hematological complications of a
SHAHRIARI,A., pump oxygenator
MATLOFF,J.M.: Circ. 37, 638 (1968)
- 108 WINTON,F.R., Renal hemodynamics
zitiert von Am.J.Med. 36, 698 (1964)
THURAU,K. in:

Herrn Prof.Dr.Dr.h.c. W. Brendel danke ich für die Überlassung des Themas und eines Arbeitsplatzes in seinem Institut.

Mein Dank gilt Herrn Priv.-Doz.Dr.W. Land für die Betreuung und die zahlreichen Hinweise im Verlaufe dieser Arbeit.

Ein besonderes Anliegen ist es für mich, Herrn Dr. A.Schilling für die Einführung in das wissenschaftliche Arbeiten zu danken.

Für die technische Unterstützung und die stete Hilfsbereitschaft danke ich Fräulein A.Allmeling, Fräulein G.Brons und Fräulein G.Höbel.

LEBENS LAUF

- 1.10.1950 geboren in Teisendorf als dritter von
fünf Söhnen des Speditionskaufmannes
Hubert Pratschke und seiner Ehefrau
Margarete, geb. Fritsch
- 1956 Eintritt in die Volksschule Teisendorf
- 1961-1970 mathematisch-naturwissenschaftlicher
Zweig des Chiemgaugymnasiums Traunstein
mit abschließender Reifeprüfung
- 1970 Beginn des Medizinstudiums an der
Ludwig Maximilians-Universität München.
Naturwissenschaftliche Vorprüfung im
SS 1971, ärztliche Vorprüfung im WS 1972/73.
- 1973 Beginn der Mitarbeit im Institut für
Chirurgische Forschung
- Frühjahr 1976 medizinisches Staatsexamen

